

**PENGARUH BAKTERI ASAM LAKTAT TERHADAP
KANDUNGAN LOGAM Fe, Sn, DAN Zn
PADA IKAN DALAM KALENG
SELAMA PENYIMPANAN**

SKRIPSI

Oleh :

HARIDA YULIANA

NRP. 1901400265

RSK
641.692
Yul
P-1
1995

PERPUSTAKAAN	
T.C.C.	
Tgl. Terima	22 NOV 1995
Terdapat	11
No. Angkutan	587



**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER SURABAYA
1995**

**PENGARUH BAKTERI ASAM LAKTAT TERHADAP
KANDUNGAN LOGAM Fe, Sn, DAN Zn
PADA IKAN DALAM KALENG
SELAMA PENYIMPANAN**

SKRIPSI

Sebuah Skripsi sebagai salah satu syarat
untuk menyelesaikan Program Sarjana S-1 Kimia FMIPA
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya

OLEH :

HARIDA YULIANA

NRP. 1901400265

**PROGRAM STUDI KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
INSTITUT TEKNOLOGI SEPULUH NOPEMBER SURABAYA**

1995

**PENGARUH BAKTERI ASAM LAKTAT TERHADAP
KANDUNGAN LOGAM Fe, Sn, DAN Zn
PADA IKAN DALAM KALENG
SELAMA PENYIMPANAN**

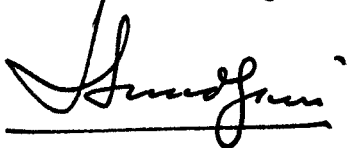
SKRIPSI

OLEH :

HARIDA YULIANA
NRP. 1901400265

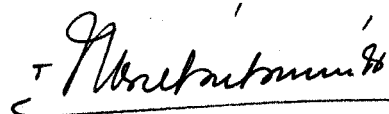
Disetujui oleh :

Dosen Pembimbing I



Drs. M. Suud Gani
NIP. 130 937 201

Dosen Pembimbing II



Dra. Nurul Lailana S.S., MS
NIP. 131 570 371

Tanggal : September 1995

**PENGARUH BAKTERI ASAM LAKTAT TERHADAP
KANDUNGAN LOGAM Fe, Sn, DAN Zn
PADA IKAN DALAM KALENG
SELAMA PENYIMPANAN**

SKRIPSI

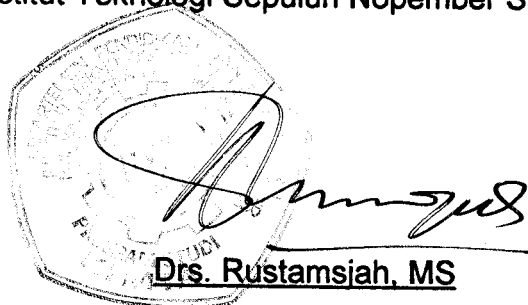
OLEH :

HARIDA YULIANA

NRP. 1901400265

Diketahui oleh :

Ketua Program Studi Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya



Drs. Rustamsjah, MS

NIP : 131 407 595

Tanggal : September 1995

ABSTRAK

Penelitian ini diawali dengan analisa fisik untuk mengetahui kondisi ikan dalam kaleng. Selanjutnya untuk mengetahui hubungan antara jumlah bakteri dengan konsentrasi logam kemasan kaleng selama penyimpanan dilakukan analisa bakteri asam laktat dan analisa logam. Analisa bakteri asam laktat meliputi penghitungan jumlah dan identifikasi bakteri, sedangkan analisa logam menggunakan alat Spektrofotometer Serapan Atom nyala.

Dengan metode analisa regresi linear sederhana dan ganda dapat diketahui bahwa terdapat hubungan antara konsentrasi logam kemasan kaleng dengan jumlah bakteri, dimana hubungan ini dipengaruhi oleh potensial elektroda logam tersebut tetapi tidak dipengaruhi oleh nilai pH dan masa penyimpanannya.

Nilai korelasi jumlah bakteri terhadap konsentrasi logam adalah berbanding terbalik dengan potensial elektroda logam. Logam Zn mempunyai nilai korelasi 0,783 dan potensial elektroda -0,763 volt; logam Fe mempunyai nilai korelasi 0,684 dan potensial elektroda -0,440 volt; logam Sn mempunyai nilai korelasi 0,477 dan potensial elektroda -0,136 volt.

ABSTRACT

This research is began by physical analysis to find canned fish condition. Then, to find relation between the amount of bacteria with metal concentration of can during storage be done by lactic acid bacteria analysis and metal analysis. Lactic acid analysis involve the amount of calculation and identification of bacteria, while metal analysis uses Flame Atomic Absorption Spectrophotometer.

By simple and multi linear regession methode, is that there are relation between metal concentration of can and the amount of bacteria, where this relation is influenced by potential of electrode of metal but it doesn't to be influenced by pH value and storage period.

Corellation value of the amount of bacteria to metal concentration of can has countrary rasio to potential of electrode of metal. Corellation value of Zn is 0,783 and potential of electrode is -0,763 volt; corellation value of Fe is 0,684 and potential of electrode is -0,440 volt; corellation value of Sn is 0,477 and potential of electrode is -0,136 volt.

KATA PENGANTAR

Puji syukur kami panjatkan atas limpahan rahmat-Nya, sehingga kami dapat menyelesaikan penelitian Tugas Akhir dengan judul :

Pengaruh Bakteri Asam Laktat Terhadap Kandungan Logam Fe, Sn, dan Zn Pada Ikan Dalam Kaleng Selama Penyimpanan.

Pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan rasa terima kasih kepada :

- Bapak Drs. M. Suud Gani, selaku dosen pembimbing I, atas saran dan bimbingannya.
- Ibu Dra. Nurul Lailana SS. MS., selaku dosen pembimbing II, atas saran dan bimbingannya .
- Bapak Drs. Rustamsjah MS., selaku Ketua Program Studi Kimia FMIPA - ITS Surabaya, atas fasilitas dan bantuannya.
- Ibu Ir. Endang Purwanti, selaku dosen wali, atas saran dan bimbingannya.
- Bapak Drs. Refdinal Nawfa, selaku Kepala Laboratorium Biokimia ITS, atas fasilitas dan bantuannya.
- Bapak Drs. Djarot Sugiarto MS., selaku koordinator Tugas Akhir, atas bantuannya.
- Bapak dan Ibu dosen staf pengajar Jurusan Kimia FMIPA - ITS Surabaya, atas bimbingannya.
- Kepala Laboratorium Pangan Universitas Brawijaya, atas arahan dan kesempatan yang diberikan untuk mengadakan penelitian di Laboratorium Pangan Universitas Brawijaya.

- Seluruh karyawan Laboratorium Pangan Universitas Brawijaya, atas bantuan dan kemudahan yang diberikan sehingga memperlancar penelitian di Laboratorium Pangan Universitas Brawijaya.
- Kepala Laboratorium Uji Air, Departemen Pekerjaan Umum, Surabaya, atas bantuan dan fasilitas yang diberikan kepada kami.
- Kepala Laboratorium Mikrobiologi IKIP Negeri Malang, atas fasilitas yang diberikan untuk kelancaran penelitian.
- Staf Laboratorium Mikrobiologi IKIP Negeri Malang, atas saran dan petunjuknya.
- Seluruh karyawan Laboratorium Kimia FMIPA - ITS Surabaya yang telah membantu kelancaran penelitian Tugas Akhir ini.
- Mama, Bapak, Wahyu, dan keluarga tercinta.
- Seluruh rekan mahasiswa, terutama Mey dan Nandika, atas saran dan bantuannya, serta Pipit atas kerjasamanya.

Pada akhirnya penulis berharap semoga tulisan ini dapat memberikan manfaat bagi yang membacanya.

Penulis

DAFTAR ISI

ABSTRAK	i
ABSTRACT	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL	vii
DAFTAR GAMBAR	viii
DAFTAR LAMPIRAN	ix

BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang	1
1.2. Permasalahan	3
1.3. Hipotesa	3
1.4. Tujuan Penelitian	3
1.5. Manfaat Penelitian	4
1.6. Ruang Lingkup Penelitian	4

BAB II DASAR TEORI

2.1. Ikan dalam Kaleng	5
2.1.1. Proses Pengalengan Ikan	5
2.1.2. Komposisi Kemasan Kaleng	6
2.1.3. Zat Tambahan	9
2.1.4. Kontaminan Pada Ikan dalam Kaleng	11
2.2. Asam Laktat	13
2.2.1. Sifat Fisik dan Kimia Asam Laktat	13
2.2.2. Bakteri Pembentuk Asam Laktat	14
2.2.3. Fermentasi	15
2.2.3. Analisa Mikrobiologi	16
2.3. Logam Kontaminan dalam Kemasan Kaleng	19
2.3.1. Timah (Sn)	19
2.3.2. Seng (Zn)	20
2.3.3. Besi (Fe)	20
2.4. Spektrofotometer Serapan Atom	21
2.5. Metode Analisa Regresi Linear	23

2.5.1. Regresi Linear Sederhana	23
2.5.2. Regresi Linear Ganda	25

BAB III METODOLOGI

3.1. Alat	29
3.2. Bahan	29
3.3. Cara Kerja	30
3.3.1. Analisa Fisik	30
3.3.2. Analisa Bakteri Asam Laktat	31
3.3.3. Analisa Logam	32
3.3.3.1. Persiapan Sampel	32
3.3.3.2. Analisa Kuantitatif	32

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Analisa Fisik	34
4.2. Analisa Bakteri Asam Laktat	36
4.3. Analisa Logam	39
4.3.1. Pengaruh Jumlah Bakteri dan Waktu terhadap Konsentrasi Logam	40
4.3.2. Pengaruh Jumlah Bakteri terhadap Konsentrasi Logam	43
4.3.3. Pengaruh Waktu terhadap Konsentrasi Logam	47

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan	49
5.2. Saran	50

DAFTAR PUSTAKA	51
-----------------------------	----

LAMPIRAN

Lampiran A	53
Lampiran B	55
Lampiran C	61
Lampiran D	64
Lampiran E	66

Lampiran F	69
Lampiran G	73
Lampiran H	74

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1. Skema tinplate	7
Gambar II.2. Skema reaksi korosi timah	8
Gambar II.3. Skema pengenceran	18
Gambar II.4. Skema alat Spektrofotometer Serapan Atom	22

DAFTAR TABEL

Tabel IV.1. Besar pH selama penyimpanan	35
Tabel IV.2. Jumlah bakteri selama penyimpanan	35
Tabel IV.3. Jumlah bakteri asam laktat selama penyimpanan	36
Tabel IV.4. Konsentrasi logam selama penyimpanan	39
Tabel IV.5. Hubungan antara potensial elektroda dengan nilai korelasi jumlah bakteri terhadap konsentrasi logam	46

DAFTAR LAMPIRAN

LAMPIRAN A	
KOMPOSISI MEDIUM	53
A.1. Nutrient Agar	53
A.2. Acid Producing Test	53
LAMPIRAN B	
SKEMA KERJA	55
B.1. Analisa Fisik	56
B.2. Analisa Bakteri Asam Laktat	57
B.3. Analisa Logam	59
LAMPIRAN C	
PERHITUNGAN JUMLAH BAKTERI	61
C.1. Analisa Mikrobiologis	61
C.2. Analisa Bakteri Asam Laktat	62
LAMPIRAN D	
GAMBAR PENUMBUHAN BAKTERI	64
D.1. Gambar Penumbuhan Bakteri dengan Nutrient Agar	64
D.2. Gambar Penumbuhan Bakteri dengan Acid Producing Test	64
D.3. Gambar Penumbuhan Bakteri Streptococcus	65
LAMPIRAN E	
PERHITUNGAN KORELASI	66
E.1. Logam Fe terhadap Jumlah Bakteri dan Waktu	66
E.2. Logam Sn terhadap Jumlah Bakteri dan Waktu	67
E.3. Logam Zn terhadap Jumlah Bakteri dan Waktu	68
LAMPIRAN F	
GRAFIK	69
F.1. Kurva Standar Logam Fe	69
F.2. Kurva Standar Logam Sn	69
F.3. Kurva Standar Logam Zn	70

F.4. Grafik Korelasi Bakteri terhadap pH	70
F.5. Grafik Korelasi Bakteri terhadap Waktu	71
F.6. Grafik Korelasi Konsentrasi Logam terhadap Waktu	71
F.7. Grafik Korelasi Konsentrasi Logam terhadap Bakteri	72
F.8. Grafik Korelasi Konsentrasi Logam terhadap pH	72

LAMPIRAN G	
TABEL POTENSIAL ELEKTRODA STANDAR	73

LAMPIRAN H	
TABEL DISTRIBUSI F	74

BAB I

P E N D A H U L U A N

1.1. Latar Belakang

Manusia memperoleh kebutuhan gizi dari macam nutrisi yang dikonsumsi. Nutrisi tersebut meliputi protein, lemak, karbohidrat, vitamin, dan mineral.

Bahan pangan alami yang banyak mengandung nutrisi tersebut, dapat diolah menjadi bahan makanan yang siap untuk dikonsumsi. Tetapi karena kebutuhan manusia akan makanan dan saat panen biasanya tidak terjadi pada saat yang sama, maka bahan makanan itu perlu diawetkan melalui pengolahan.

Semua bahan mentah adalah komoditi yang mudah rusak. Penyebab kerusakan pada makanan olahan, khususnya makanan kaleng adalah kerusakan secara mikrobial maupun non mikrobial. Kerusakan non-mikrobial meliputi penggembungan karena hydrogen, nitrit, dan karbondioksida serta korosi (Murrel, 1978). Kerusakan mikrobial sebagai faktor utama penyebab perubahan bahan makanan, dipengaruhi oleh aktivitas air yang tinggi didukung pula oleh faktor suhu, pH, dan faktor fisik lainnya. Azas pengawetan bahan makanan didasarkan pada pengaturan semua faktor lingkungan tersebut. Untuk itulah mutu proses pengolahan harus diusahakan sebaik mungkin.

Pengalengan merupakan salah satu proses pengolahan makanan untuk memperpanjang masa simpannya. Pengalengan telah dirintis oleh Appert pada tahun 1800-an yang menyatakan bahwa kemasan bahan

makanan harus ditutup dan dipanaskan dengan hati-hati. Berawal dari hal itu, teknologi pengalengan makin berkembang hingga terciptanya kaleng saniter yang makin memperkecil kemungkinan migrasi logam kemasan ke dalam makanan. Yang paling banyak dipakai saat ini adalah kemasan baja berlapis timah (tinplate) mengingat bahwa timah bersifat relatif tidak beracun (Suzuki, 1989). Meski demikian kemungkinan bermigrasinya logam Zn, Fe, dan Sn sebagai komponen tinplate masih mungkin terjadi.

Berdasar penelitian menunjukkan bahwa selisih potensial antara timah dengan besi adalah berbanding lurus dengan pH (Suzuki, 1989). Potensial gabungan timah-besi terjadi bila tinplate bersinggungan dengan asam dalam keadaan tanpa udara (Kirk-Othmer, 1979). Hal ini memungkinkan terlarutnya logam kemasan tinplate ke dalam makanan. Dengan demikian makanan dalam kaleng yang mengandung asam mempunyai kemungkinan mengalami kontaminasi.

Sumber asam dalam makanan kaleng selain karena sifat asam dari bahan makanan itu sendiri, kemungkinan juga merupakan hasil reaksi kimia. Fermentasi karbohidrat atau gula oleh bakteri asam laktat yang menghasilkan asam laktat merupakan salah satu reaksi kimia itu. Proses fermentasi asam laktat biasanya terjadi pada makanan dengan keasaman tinggi dan susu, tetapi tidak menutup kemungkinan fermentasi tersebut terjadi pada makanan kaleng dengan keasaman rendah. Ikan dalam kaleng yang merupakan makanan dengan keasaman rendah, mengandung bahan tambahan, seperti halnya saus tomat yang memungkinkan terjadinya fermentasi asam laktat. Tersedianya substrat dan proses pengolahan yang tidak sempurna memicu terjadinya proses

fermentasi oleh bakteri asam laktat seperti streptococcus, lactobacillus, dan lain sebagainya.

1.2. Permasalahan

Asam laktat hasil fermentasi menciptakan suasana asam dalam makanan, dimana keasaman ini menyebabkan oksidasi logam kemasan kaleng. Semakin lama masa penyimpanan makanan kaleng, semakin banyak jumlah bakteri yang tumbuh sehingga semakin banyak asam laktat yang dihasilkan. Dengan adanya asam laktat, pH makanan akan turun yang menyebabkan semakin banyak logam kemasan kaleng yang teroksidasi dan mengkontaminasi makanan.

1.3. Hipotesa

Diduga ada pengaruh bakteri asam laktat terhadap kelarutan logam kemasan kaleng pada ikan dalam kaleng. Asam laktat sebagai hasil fermentasi bakteri asam laktat menciptakan suasana asam yang menyebabkan oksidasi logam kemasan kaleng selama masa penyimpanan.

1.4. Tujuan Penelitian

Mengetahui apakah ada pengaruh bakteri asam laktat pada ikan dalam kaleng terhadap logam sebagai bahan penyusun kaleng.

1.5. Manfaat Penelitian

Mengetahui sejauh mana pengaruh logam pelapis kemasan kaleng terhadap bahan makanan.

1.6. Ruang Lingkup Penelitian

Penentuan jumlah bakteri asam laktat dengan metode hitungan cawan dan penentuan kadar logam Fe, Sn, dan Zn pada ikan dalam kaleng dengan metode Spektrofotometer Serapan Atom nyala.

BAB II

DASAR TEORI

2.1. Ikan dalam Kaleng

Ikan sebagai salah satu sumber nutrisi, mempunyai komposisi sebagai berikut (Sofyan Ilyas, 1983) :

- Air : 70 - 80 %
- Protein : 18 - 20 %
- Lemak : 0,5 - 20 %
- Vitamin dan mineral

Untuk memperpanjang waktu simpannya, ikan diolah. Salah satu proses pengolahan yang banyak dikenal adalah pengalengan.

Komposisi ikan dalam kaleng, pada umumnya ditambah dengan bahan pengawet, berupa air, garam, minyak atau saus tomat.

2.1.1. Proses Pengalengan Ikan

Pengalengan merupakan salah satu cara untuk menyelamatkan makanan dari proses pembusukan. Pada proses pengalengan, ikan dimasukkan ke dalam sebuah wadah yang ditutup rapat supaya udara dan zat-zat serta organisme perusak tidak dapat masuk. Kemudian wadah dipanasi dengan suhu dan jangka waktu tertentu untuk mematikan atau setidaknya menghambat perkembangan organisme tertentu, seperti jamur dan bakteri, baik bakteri pembusuk maupun patogen, termasuk spora. Proses pengalengan ini dilakukan pada suhu tinggi (110°C - 120°C) untuk mencapai keadaan steril. Penyeterilan 100 % secara praktis tidak dapat

dicapai tanpa perubahan yang merugikan hasil, oleh sebab itu sterilisasi cukup sampai "commercial sterility", dimana hasil itu tidak 100 % steril tetapi cukup bebas dari bakteri-bakteri patogen hingga tahan disimpan selama dua tahun (Moeljanto, 1982). Tingginya suhu sterilisasi dapat dikurangi dengan jalan merendahkan pH ikan kaleng tanpa mengurangi mutunya. Adapun proses pengalengan ikan meliputi :

1. Pencucian
2. Pemotongan
3. Pengukusan (precooking)
4. Pemasukan ke dalam kaleng
5. Penambahan bumbu
6. Pengeluaran udara
7. Penutupan kaleng
8. Sterilisasi
9. Pemberian label

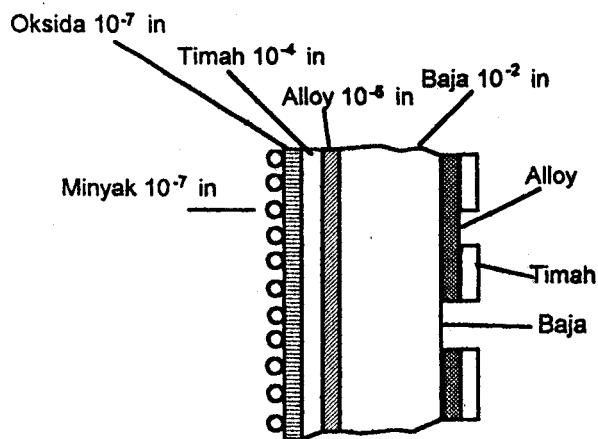
2.1.2. Komposisi Kemasan Kaleng

Pengemasan merupakan suatu cara untuk memberikan kondisi lingkungan yang tepat bagi bahan makanan. Kemasan yang masih dipakai dan sangat penting dalam pengemasan bahan makanan adalah kaleng yang terbuat dari "tinplate". Sifat-sifat "tinplate" yang menyebabkan bahan ini dapat dibentuk seperti yang diinginkan adalah sebagai berikut :

1. Kekuatan dan kekakuan
2. Dalam kondisi penyimpanan yang normal mempunyai ketahanan yang baik terhadap karat
3. Penampakan yang menarik

4. Tahan terhadap tekanan dan suhu pengolahan tinggi (K.A. Buckle, et.al, 1985)

"Tinplate" terdiri atas 9 lapisan dengan lapisan tengah terbuat dari baja yang tiap sisinya dilapisi oleh suatu lapisan campuran Sn-Fe, kemudian Sn, selapis oksida, dan lapisan terluar untuk bagian dalam adalah lapisan tipis minyak.



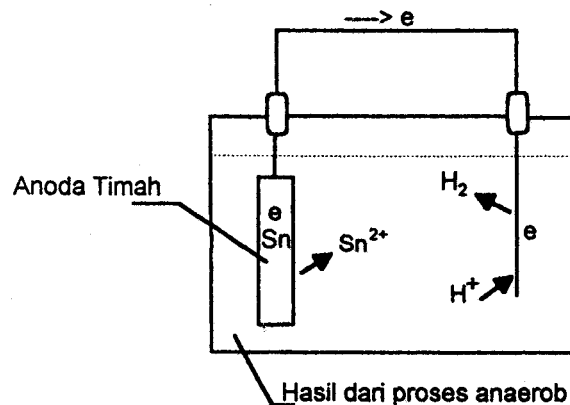
Gambar II.1. Skema tinplate

Seng dalam bentuk oksida, ZnO digunakan sebagai pelapis logam terluar setelah minyak. P.W. Board (1972) menyatakan bahwa minyak dan lapis tipis oksida pada permukaan lempeng timah biasanya hancur selama proses pemanasan atau segera setelah proses pemanasan. Dengan demikian alloy (FeSn) menjadi pembatas inert antara makanan dengan lapisan baja, sedang lapisan timah yang langsung bersentuhan dengan makanan dapat mengalami reaksi penyebab larutnya logam tersebut.

Pada sebagian besar makanan, di bawah kondisi tersebut timah bertindak sebagai anoda dan baja sebagai katoda dengan reaksi :

- Reaksi anoda : $\text{Sn} \longrightarrow \text{Sn}^{2+} + 2e$
- Reaksi katoda : $2\text{H}^+ + 2e \longrightarrow \text{H}_2$

Reaksi tersebut dijelaskan oleh skema berikut :



Gambar II.2. Skema reaksi korosi timah

Kecenderungan untuk terjadinya reaksi oksidasi dan reduksi berhubungan dengan potensial elektroda logam tersebut seperti yang ditunjukkan oleh Deret Volta, yaitu :



Hidrogen sebagai elektroda standar mempunyai potensial elektroda (E^0) berharga 0, dimana harga E^0 semakin besar (semakin positif) untuk logam-logam yang berada di sebelah kanan hidrogen dan semakin kecil (semakin negatif) untuk logam-logam di sebelah kiri hidrogen. Harga potensial elektroda standar untuk tiap-tiap logam terlampir. Hal itu menunjukkan bahwa logam-logam pada Deret Volta di sebelah kanan hidrogen semakin ke kanan semakin mudah tereduksi, sebaliknya untuk logam-logam di sebelah kiri hidrogen semakin ke kiri semakin mudah teroksidasi.

Logam yang dihasilkan dari reaksi tersebut pada korosi tinsplate dapat membentuk kompleks dengan senyawa yang ada dalam makanan. Dengan demikian, mengingat sifat asam laktat yang dapat membentuk

garam dengan logam, maka kemungkinan dapat terbentuk garam dari asam laktat dengan logam pelapis kemasan yang telah teroksidasi.

Beberapa faktor yang menentukan besarnya pengurangan pada bagian dalam kaleng yang terbuat dari "tinplate" adalah :

1. Sifat dari bahan makanan, terutama pH.
2. Adanya bahan pemacu terjadinya karat seperti nitrat, belerang, zat warna anthocyanin, dan lain-lain.
3. Banyaknya sisa oksigen dalam bahan makanan dan pada bagian atas kaleng.
4. Macam "tinplate" (misalnya : berat lapisan timah, macam dan komposisi lapisan baja dasar, keefektifan perlakuan pada permukaan lapisan, dan lain-lain).
5. Suhu dan waktu penyimpanan (K.A.Buckle,et.al., 1985).

2.1.3. Zat Tambahan

Pada umumnya ikan dalam kaleng mengandung bahan-bahan tambahan seperti gula, garam, rempah-rempah, saus tomat, dan sebagainya. Adapun manfaat dari masing-masing bahan tersebut adalah sebagai berikut :

a. Garam dan gula

Kedua senyawa ini dikelompokkan bersama-sama karena mempunyai model aksi yang sejenis terhadap pengawetan makanan. Garam digunakan sebagai pengawet makanan dan untuk memperbaiki rasa. Pengawet ini sudah digunakan sejak jaman dulu. Pada mulanya garam digunakan untuk pengawetan ikan, penggunaan ini didasarkan pada kenyataan bahwa penggunaan garam menghambat pertumbuhan

mikroorganisme. Gula selain sebagai pengawet juga berfungsi untuk memperbaiki rasa. Kombinasi gula dan garam akan menurunkan aktivitas air.

b. Rempah-rempah

Rempah-rempah digunakan untuk memperbaiki aroma daging maupun produk ikan. Rempah-rempah yang sering digunakan pada umumnya dalam bentuk bubuk halus maupun bubuk kasar. Rempah-rempah dapat bertindak sebagai pengawet.

c. Saus tomat

Saus tomat merupakan salah satu pengawet dalam makanan kaleng, khususnya ikan dalam kaleng. Komposisi saus tomat pada umumnya terdiri dari :

- Pasta tomat
- Gula
- Garam
- Tepung jagung
- Natrium benzoat
- Air

Saus tomat berfungsi sebagai pengawet karena kemampuannya sebagai penghantar panas sehingga memperpendek waktu sterilisasi dan menurunkan pH (Moeljanto, 1982).

2.1.4. Kontaminan pada Ikan dalam Kaleng

Ikan dan produk perikanan merupakan bahan makanan yang memiliki pH dalam rentang 5 - 6,8. Golongan ini termasuk bahan makanan dengan keasaman rendah, dimana makanan dengan keasaman rendah yang dikalengkan mempunyai kemungkinan yang besar untuk terkontaminasi. Mikrobial termasuk sporanya merupakan sumber kontaminan utama. Mikrobial yang terdapat dalam makanan dengan keasaman rendah kemungkinan besar diantaranya adalah :

- bakteri aerob pembentuk spora, contohnya genus *Bacillus*
- bakteri anaerob pembentuk spora, contohnya genus *Clostridium*
- bakteri pembentuk asam yang membentuk spora, meliputi genus *Bacillus* dan *Clostridium*
- bakteri pembentuk asam yang tidak membentuk spora, contohnya family *Lactobacillaceae*

Bahan mentah, peralatan, kemasan dan air pendingin merupakan beberapa media pembawa mikrobial perusak. Untuk itu diperlukan proses pencucian dan pemanasan yang cukup untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikrobial perusak, termasuk sporanya. Ikan dalam kaleng, sebagai makanan dengan keasaman rendah diproses dengan suhu diatas 100°C untuk mematikan bakteri tahan panas.

Kerusakan biologis pada makanan kaleng oleh mikroorganisme bisa dihasilkan oleh salah satu atau kedua penyebab ini; organisme yang bertahan hidup setelah pemanasan, atau kebocoran kaleng setelah pemanasan yang memungkinkan masuknya bakteri kontaminan.

Kebanyakan mikrobial dapat dimatikan dengan pemanasan pada suhu yang mendekati titik didih air, tetapi hal itu tidak terjadi pada

sporanya. Ada faktor-faktor yang mempengaruhi resistensi spora terhadap pemanasan, yaitu antara lain :

a. Konsentrasi

Makin besar jumlah spora makin tinggi resistensinya terhadap panas

b. Lingkungan

Resistensi spora bakteri dipengaruhi oleh faktor fisik dan kimiawi di luar spora.

c. Bahan Penyusun

- Gula

Waktu pemanasan yang lebih lama diperlukan untuk mematikan spora kalau konsentrasi gula dalam larutan bertambah.

- Garam-garam anorganik

Garam natrium klorida dalam larutan dengan konsentrasi sampai dengan 4 % dapat melindungi spora yang resisten terhadap panas.

- Pati, protein, rempah-rempah, dan lemak.

Pati memungkinkan pertumbuhan organisme dalam jumlah yang lebih besar dibandingkan dengan tanpa adanya pati. Protein memberi perlindungan pada spora terhadap pemanasan. Rempah-rempah yang merupakan penyedap dapat memiliki daya mengawetkan, dan dapat menurunkan toleransi spora terhadap pemanasan. Lemak dan minyak melindungi spora dari pemanasan, dikenal dengan "fat protection".

Kerusakan kimia penting lain adalah kandungan gas hidrogen yang dihasilkan oleh asam dari makanan dalam kaleng. Gas hidrogen dihasilkan oleh : keasaman makanan, peningkatan suhu penyimpanan, pelapisan timah dan minyak yang tidak sempurna pada dinding kaleng, adanya

larutan sulfur dan senyawa fosfor. Kerusakan lain yang disebabkan oleh interaksi kaleng dengan makanan yang ada di dalamnya, meliputi: perubahan warna bagian dalam kaleng, perubahan warna pada makanan, makanan menjadi basi, korosi atau kebocoran kaleng, hilangnya nutrisi.

2.2. Asam Laktat

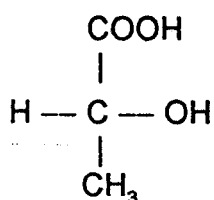
2.2.1. Sifat Fisik dan Kimia Asam Laktat

Asam laktat dengan rumus $\text{CH}_3\text{CHOHCOOH}$ mempunyai nama lain asam 2-hidroksipropanoat atau asam 2-hidroksipropionat. Asam ini merupakan hasil dari fermentasi karbohidrat atau gula dan biasanya terdapat dalam makanan basi, terutama komponen asam dalam susu basi, dalam darah binatang, serta jaringan otot. Bermanfaat terutama dalam industri makanan, dimana asam ini dapat memperbaiki cita rasa makanan.

Asam laktat dapat membentuk garam dengan logam, misalnya seng laktat dan barium laktat.

Jenis-jenis asam laktat

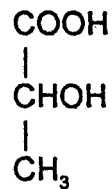
- D - Asam laktat



Mempunyai harga $\text{pK}_a = 3,83$; titik leleh = $52,8^\circ\text{C}$.

Dapat diperoleh dari pemisahan DL - Asam laktat dan secara laboratorium diperoleh dari glukosa dengan bantuan *Lactobacillus leichmannii*.

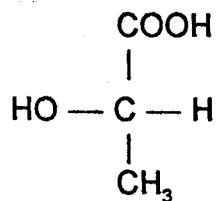
- DL - Asam laktat



Mempunyai harga $pK_a = 3,86$; titik leleh = $16,8^\circ\text{C}$.

Biasanya terdapat dalam susu basi karena aktifitas bakteri asam laktat. Secara komersial dapat diperoleh dari fermentasi gandum, tepung jagung, dan kentang.

- L - Asam laktat



Mempunyai harga $pK_a = 3,79$; titik leleh = 53°C .

Terdapat dalam jumlah kecil dalam darah dan otot manusia dan hewan. Asam ini meningkat dalam darah dan otot setelah adanya aktifitas otot.

2.2.2. Bakteri Pembentuk Asam Laktat

Streptococcus yang termasuk dalam family *Lactobacillaceae*, merupakan salah satu bakteri pembentuk asam laktat, dimana bakteri ini mempunyai ciri-ciri sebagai berikut :

- Merupakan bakteri gram positif
- Berbentuk bulat (coccus)
- Dapat dijumpai secara tunggal, berpasangan, atau berbentuk rantai.
- Merupakan bakteri pembentuk asam laktat homofermentatif

Streptococcus terbagi atas empat kelas, yaitu *pyogenic*, *viridans*, *enterococcus*, dan *lactis*. Keempat kelas itu berperan dalam fermentasi pembentukan asam laktat, tetapi yang paling utama adalah *Streptococcus lactis*. Dorn dan Rahn (1939) menyatakan bahwa *Streptococcus lactis* mencapai kecepatan pertumbuhan maksimal pada 34°C, dan kecepatan fermentasi maksimal pada 40°C.

2.2.3. Fermentasi

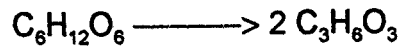
Fermentasi adalah perubahan kimia dari bahan makanan sebagai hasil dari metabolisme anaerobik. F.H. Grau (1978) menyatakan bahwa dalam keadaan *vacuum* organisme fermentatif menjadi dominan. Hersom (1964) menyatakan bahwa pada daging dalam, kemasan kaleng, bakteri non sprora dapat bertahan dengan adanya *fat protection*.

Ada beberapa kemungkinan fermentasi yang bisa terjadi pada ikan dalam kaleng mengingat bervariasinya substrat yang ada di dalamnya, antara lain :

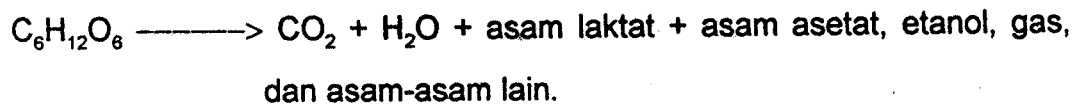
- Fermentasi protein oleh bakteri *proteus* menghasilkan amina dan amoniak.
- Fermentasi lemak oleh bakteri *alkaligenes* menghasilkan asam-asam lemak.
- Fermentasi gula/karbohidrat oleh bakteri pembawa asam laktat menghasilkan asam laktat dan sebagian kecil asam lain serta etanol. (Norman Potter, 1964)

Ada dua jenis fermentasi pembentukan asam laktat, yaitu secara homofermentatif dan heterofermentatif. Bakteri pembentuk asam laktat homofermentatif hanya menghasilkan asam laktat sebagai hasil akhir

metabolisme gula, salah satu contohnya adalah *Streptococcus*. *Streptococcus* membentuk asam laktat secara fermentatif dengan reaksi :



Sedangkan untuk jenis heterofermentatif, disamping asam laktat juga dihasilkan alkohol, ester, gas, dan asam-asam lain, dengan reaksi :



Bakteri asam laktat heterofermentatif, antara lain adalah : *Lactobacillus*, *Leuconostoc*.

Asam laktat yang dihasilkan secara fermentasi akan menurunkan nilai pH dari lingkungannya, menimbulkan rasa asam, dan menghambat pertumbuhan organisme lain. (K.A. Buckel et.al, 1984)

2.2.3. Analisa Mikrobiologi

Langkah awal untuk mengetahui kondisi makanan kaleng adalah dengan analisa fisik, yaitu meliputi kenampakan, bau, pH, dan keadaan mikrobiologinya.

Keadaan mikrobiologi dianalisa dengan menentukan jumlah bakteri dalam bahan makanan dan dilakukan identifikasi lebih lanjut bila diperlukan, misalnya identifikasi dengan metode pewarnaan. Metode yang sering digunakan untuk menentukan jumlah bakteri di dalam bahan makanan adalah metode hitungan cawan. Pada metode hitungan cawan dilakukan penumbuhan yang dilanjutkan dengan penghitungan jumlah bakteri.

Prinsip dari metode hitungan cawan adalah jika sel bakteri yang masih hidup ditumbuhkan pada medium agar maka sel bakteri tersebut

akan berkembang biak dan membentuk koloni yang dapat dilihat langsung dengan mata tanpa menggunakan mikroskop. Metode ini merupakan cara yang paling sensitif untuk menentukan jumlah bakteri karena :

1. Hanya sel yang masih hidup yang dihitung.
2. Beberapa jenis bakteri dapat dihitung sekaligus.
3. Dapat digunakan untuk isolasi dan identifikasi bakteri karena koloni yang terbentuk mungkin berasal dari satu sel bakteri dengan penampakan pertumbuhan yang spesifik.

Metode hitungan cawan dapat dibedakan atas dua cara yaitu metode tuang dan metode permukaan. Dalam penelitian ini digunakan metode tuang

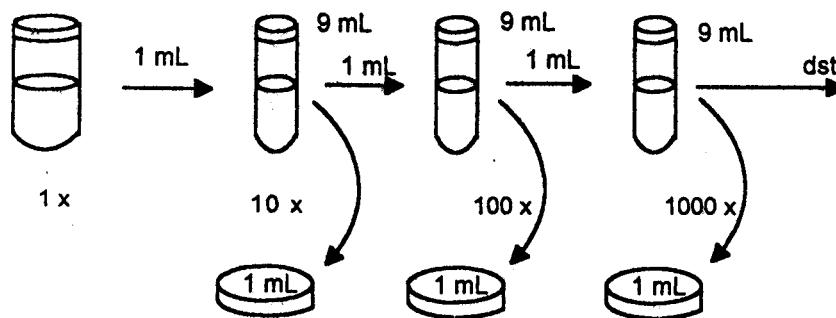
Metode tuang

Metode tuang adalah metode penumbuhan bakteri, dimana penumbuhan bakteri disebar merata ke seluruh bagian medium sehingga penghitungan jumlah bakteri dapat dilakukan dengan melihat bagian bawah cawan.

Metode tuang berguna untuk mengencerkan bakteri yang terdapat pada cuplikan bahan makanan dan dapat digunakan untuk mengisolasi bakteri dari cuplikan. Pada metode ini digunakan medium yang dapat menumbuhkan semua jenis bakteri, misalnya nutrient agar, atau medium yang hanya menumbuhkan bakteri tertentu yang terdapat dalam cuplikan bahan makanan, misalnya medium penumbuh bakteri asam laktat.

Perhitungan jumlah bakteri

Sebelum ditumbuhkan di dalam medium agar pada cawan petri, cuplikan diencerkan sehingga setelah inkubasi akan terbentuk koloni pada cawan tersebut dalam jumlah yang dapat dihitung, dimana jumlah yang terbaik adalah di antara 30 sampai 300 koloni. Jika jumlah koloni lebih kecil dari 30 pada semua pengenceran maka perhitungan dilakukan terhadap pengenceran terendah, sebaliknya jika jumlah koloni lebih banyak dari 300 maka perhitungan dilakukan terhadap pengenceran tertinggi. Pengenceran biasanya dilakukan secara desimal yaitu 1:10, 1:100, dan seterusnya. Pengenceran dijelaskan oleh skema berikut :



Gambar II.3. Skema pengenceran

Dengan pengenceran secara desimal perhitungan koloni akan lebih mudah dan cepat. Cara penghitungan koloni adalah sebagai berikut :

Faktor pengenceran = $\frac{\text{pengenceran awal}}{\text{pengenceran selanjutnya}} \times \text{jumlah yang ditumbuhkan}$

Koloni per gram = $\text{koloni} \times \frac{1}{\text{faktor pengenceran}}$

Setiap koloni dianggap berasal dari satu sel yang membelah menjadi banyak sel.

Pewarnaan Bakteri

Salah satu cara untuk mengamati bentuk atau ciri suatu bakteri dengan menggunakan mikroskop adalah dengan cara mengamati sel-sel bakteri yang telah mati dan diwarnai.

Dalam pewarnaan bakteri dapat digunakan satu macam zat warna, cara ini dinamakan pewarnaan sederhana. Pewarnaan sederhana ini memungkinkan dibedakannya bakteri berdasarkan morfologinya.

Pada metode ini sebelum dilakukan pewarnaan, sel-sel terlebih dahulu difiksasi pada gelas obyek. Yang dimaksud dengan fiksasi adalah membunuh bakteri dan membuat sel bakteri tersebut melekat pada gelas obyek.

2.3. Logam Kontaminan dalam Kemasan Kaleng

2.3.1. Timah (Sn)

Timah (Sn) adalah logam golongan IV A dalam tabel periodik dengan ciri-ciri sebagai berikut :

- Titik leleh : 231,9°C
- Titik didih : 2625°C
- Nomor atom : 50
- Berat atom : 118,69
- Bilangan oksidasi : +2 dan +4

Timah berupa serbuk halus berwarna putih keperakan memiliki dua bentuk alotropik yaitu : timah putih dan timah abu-abu. Timah putih merupakan bentuk yang biasa dikenal, kristalnya berbentuk tetragonal, bersifat amfoter, bereaksi dengan asam dan basa kuat tetapi tidak bereaksi dalam larutan yang mendekati netral.

Potensial gabungan timah-besi terjadi bila baja berlapis timah ("tinplate") bersinggungan dengan larutan asam dalam keadaan tanpa udara. Dalam industri pengalengan makanan, besi yang terlarut akan berpengaruh terhadap rasa dan kenampakan bahan makanan, dalam hal ini timah mencegah terjadinya hal itu.

2.3.2. Seng (Zn)

Seng (Zn) adalah logam golongan II B dalam tabel periodik mempunyai ciri-ciri :

- Nomor atom : 30
- Berat atom : 65,37
- Titik leleh : 419,58°C
- Titik didih : 907°C
- Bilangan oksidasi : +2

Seng biasanya digunakan sebagai anoda untuk melindungi bahan terhadap korosi. Larut dalam asam dan larutan alkali panas. Ciri-ciri seng yang lain bervariasi tergantung pada senyawa yang dibentuknya. Paduan seng banyak digunakan dalam berbagai macam industri.

2.3.3. Besi (Fe)

Besi (Fe) merupakan logam golongan VIII dalam tabel periodik mempunyai ciri-ciri sebagai berikut :

- Nomor atom : 26
- Berat atom : 55,847
- Titik leleh : 1532°C
- Titik didih : 3000°C

- Bilangan oksidasi : +2 dan +3

Besi murni berwarna putih keperakan, merupakan logam yang halus dan kristalnya berbentuk kubus, biasanya ditemukan dalam bentuk senyawaan dengan unsur lain, misalnya oksigen atau sulfur. Senyawa besi oksida merupakan bahan dasar pembuatan baja.

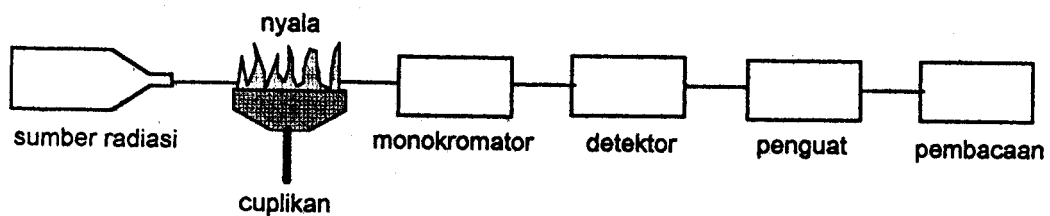
2.4. Spektrofotometer Serapan Atom

Spektrofotometer Serapan Atom merupakan suatu metode yang cepat dan tepat untuk analisis atom pada konsentrasi rendah. Alat ini banyak digunakan dalam analisa logam karena kecepatan analisisnya, ketelitiannya sampai tingkat runut, kemampuannya menganalisa sampai 61 jenis logam, disampaing dua unsur non logam, yaitu fosfor dan boron. Metode pengukurannya didasarkan pada jumlah radiasi yang terserap oleh atom-atom bebas, yaitu sebesar jumlah selisih antara intensitas radiasi mula-mula dengan intensitas radiasi setelah melalui sampel. Besarnya jumlah radiasi yang terserap bergantung pada jumlah dan kemampuan menyerap radiasi dari atom-atom bebas itu.

Proses penyerapan / absorpsi pada prinsipnya terdiri atas beberapa langkah :

1. Penguapan pelarut meninggalkan residu padat.
2. Penguapan padatan dan dissosiasi menjadi suatu uap atom dalam keadaan dasar dan keadaan eksitasi.
3. Dari keadaan dasar ini akan dapat terjadi eksitasi akibat panas jika suhu dinaikkan atau absorpsi radiasi yang dilewatkan pada nyala (Baset, et.al, 1978).

Adapun mekanisme kerja Spektrofotometer Serapan Atom untuk pengukuran secara kuantitatif diawali oleh energi radiasi yang diemisikan oleh lampu katoda berongga pada panjang gelombang yang sesuai dengan panjang gelombang unsur yang dianalisa. Radiasi ini selanjutnya melewati nyala yang merupakan tempat terbentuknya atom-atom bebas pada keadaan dasar, disamping sebagian atom-atom akan tereksitasi memancarkan radiasi. Atom-atom pada keadaan dasar menyerap sebagian radiasi yang diterimanya dan sebagian lagi diteruskan. Pita spektra yang dihasilkan, salah satu yang paling besar intensitasnya, diisolasi oleh monokromator, diteruskan ke detektor. Penguat (amplifier) mengubah sinyal yang diterima dari detektor menjadi sinyal listrik untuk kemudian diteruskan ke perekam. Urutan proses itu dapat dijelaskan oleh skema berikut :



Gambar II.4. Skema alat Spektrofotometer Serapan Atom

Penggunaan Spektrofotometer Serapan Atom dalam analisa dapat terganggu oleh beberapa sebab, yaitu :

1. Gangguan kimia, disebabkan adanya komponen yang membentuk senyawa stabil, dimana senyawa ini tidak dapat terdissosiasi dengan sempurna pada proses atomisasi.

2. Gangguan matriks, disebabkan adanya unsur atau senyawa dalam cuplikan yang mengakibatkan sifat fisik cuplikan berbeda dengan standar murni. Gangguan ini mempengaruhi proses atomisasi.
3. Gangguan ionisasi, terjadi karena suhu yang tinggi menyebabkan atom-atom tidak hanya teratomisasi pada keadaan dasar tetapi dapat tereksitasi bahkan terionisasi.
4. Gangguan spektra, gangguan ini terjadi jika profil serapan tumpang tindih dengan garis spektra dari unsur lain.
5. Serapan latar, disebabkan oleh serapan molekuler dan karena adanya hamburan sinar yang disebabkan oleh partikel-partikel halus yang menghalangi sinar.

2.5. Metode Analisa Regresi Linear

2.5.1. Regresi Linear Sederhana

Regresi linear sederhana digunakan untuk menentukan hubungan sebuah variabel bebas tunggal X dan sebuah variabel tidak bebas Y . bentuk persamaan regresi linear sederhana :

$$\hat{Y} = a + bX$$

Dengan metode ini terlebih dahulu data dikelompokkan sedemikian rupa sehingga membentuk pasangan.

Persamaan itu didapat dengan langkah-langkah sebagai berikut :

- Hitung jumlah X (ΣX), jumlah Y (ΣY), jumlah XY (ΣXY), jumlah X^2 (ΣX^2) kedalam sebuah tabel seperti di bawah ini.
- Hasil tersebut dipakai untuk menghitung a dan b
 a = gradien/slope/kemiringan dari kumpulan data

$$a = \frac{n \sum XY - \sum X + \sum Y}{n \sum X^2 - (\sum X)^2}$$

b = perpotongan dari kumpulan data terhadap (sumbu) y.

$$b = \bar{y} - a\bar{x} \text{ dimana } \bar{y} = \frac{\sum y_i}{n}; \bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}$$

\bar{X} = harga rata-rata X

\bar{Y} = harga rata-rata Y

X	Y	XY	X ²	Y ²
X ₁	Y ₁	X ₁ Y ₁	X ₁ ²	Y ₁ ²
X ₂	Y ₂	X ₂ Y ₂	X ₂ ²	Y ₂ ²
X ₃	Y ₃	X ₃ Y ₃	X ₃ ²	Y ₃ ²
X _n	Y _n	X _n Y _n	X _n ²	Y _n ²
ΣX	ΣY	ΣXY	ΣX ²	ΣY ²

Koefisien korelasi dihitung dengan menggunakan rumus:

$$r^2 = \frac{nb(\sum Y) + na(\sum XY) - (\sum Y)^2}{n \sum Y^2 - (\sum Y)^2}$$

Pemeriksaan kelinearan regresi dilakukan melalui pengujian hipotesa nol bahwa regresi linear melawan hipotesa tandingan bahwa regresi non-linear, sedangkan keberartian regresi diperiksa melalui pengujian hipotesa nol bahwa koefisien-koefisien regresi, khususnya koefisien arah b, sama dengan nol (tidak berarti) melawan hipotesa tandingan bahwa koefisien arah regresi tidak sama dengan nol (atau bentuk lain bergantung pada persoalannya).

Sumber Variasai	dk	JK	KT	F
Total	n	ΣY^2	ΣY^2	
Koefesien (a)	1	JK(a)	JK(a)	
Regresi (b a)	1	JK(b a)	$s^2_{reg} = JK(b a)$	s^2_{reg}
Sisa	n - 2	JK(S)	$s^2_{sis} = JK(S)$ n - 2	s^2_{sis}

dimana

$$JK(a) = \frac{(\Sigma Y)^2}{n}$$

$$JK(b|a) = b \left[\Sigma XY - \frac{(\Sigma X)(\Sigma Y)}{n} \right]$$

$$= \frac{n \Sigma XY - (\Sigma X)(\Sigma Y)}{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}$$

$$JK(S) = JK(T) - JK(a) - JK(b|a)$$

$$JK(T) = \Sigma Y^2$$

2.5.2. Regresi Linear Ganda

Metode ini membahas hubungan antara sebuah peubah tak bebas dengan dua atau lebih dua peubah bebas dalam bentuk regresi linear.

Bentuk umum dari regresi linear ganda

$$\hat{Y} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2 + \dots + b_kX_k$$

ika terdapat dua peubah X_1 dan X_2 , maka model menjadi

$$\hat{Y} = b_0 + b_1X_1 + b_2X_2$$

X_1	X_2	Y	X_1X_2	X_1Y	X_2Y	X_1^2	X_2^2	Y^2
X_{11}	X_{21}	Y_1	$X_{11}X_{21}$	$X_{11}Y_1$	$X_{21}Y_1$	X_{11}^2	X_{21}^2	Y_1^2
X_{12}	X_{22}	Y_2	$X_{12}X_{22}$	$X_{12}Y_2$	$X_{22}Y_2$	X_{12}^2	X_{22}^2	Y_2^2
X_{13}	X_{23}	Y_3	$X_{13}X_{23}$	$X_{13}Y_3$	$X_{23}Y_3$	X_{13}^2	X_{23}^2	Y_3^2
X_{1n}	X_{2n}	Y_n	$X_{1n}X_{2n}$	$X_{1n}Y_n$	$X_{2n}Y_n$	X_{1n}^2	X_{2n}^2	Y_n^2
ΣX_1	ΣX_2	ΣY	ΣX_1X_2	ΣX_1Y	ΣX_2Y	ΣX_1^2	ΣX_2^2	ΣY^2

Selanjutnya koefisien b_0 , b_1 , b_2 dihitung dengan rumus :

$$\begin{aligned}\Sigma Y &= nb_0 + b_1 \Sigma X_1 + b_2 \Sigma X_2 \\ \Sigma X_1 Y &= b_0 \Sigma X_1 + b_1 \Sigma X_1^2 + b_2 \Sigma X_1 X_2 \\ \Sigma X_2 Y &= b_0 \Sigma X_2 + b_1 \Sigma X_1 X_2 + b_2 \Sigma X_2^2\end{aligned}$$

Untuk menyelesaikan persamaan diatas digunakan metode eliminasi.

Koefisien-koefisien korelasi sederhana r_{ij} antara X_i dan X_j dan r_{yi} antara Y dengan X_i secara umum dapat ditulis dengan rumus:

$$r_{xy} = \frac{\Sigma Z_x Z_y}{n}$$

dimana

$$Z_x = \frac{X - \bar{X}}{S_x}$$

$$Z_y = \frac{Y - \bar{Y}}{S_y}$$

\bar{X} = harga rata-rata X

\bar{Y} = harga rata-rata Y

S_x = simpangan baku untuk X

$$S_x = \sqrt{\frac{n \Sigma X^2 - (\Sigma X)^2}{n(n-1)}}$$

S_y = simpangan baku untu Y

$$S_y = \sqrt{\frac{nY^2 - \sum Y}{n(n-1)}}$$

Koefisien korelasi antara Y dan semua X_1, X_2, \dots, X_k secara serempak, korelasi ganda pada regresi linear ganda dihitung dengan menggunakan rumus:

$$R^2 = \frac{JK(Reg)}{\sum y^2}$$

Untuk regresi linear ganda dalam membuat kesimpulan harus dilakukan pemeriksaan terhadap keberartiannya. Menguji keberartian regresi linear ganda ini dimaksudkan untuk meyakinkan apakah regresi linear yang didapat berdasarkan penelitian ada artinya bila dipakai untuk membuat kesimpulan mengenai sejumlah peubah.

Uji keberartian regresi linear ganda dilakukan dengan dua macam jumlah kuadrat-kuadrat (JK), ialah untuk regresi, JK (Reg), dan untuk sisa, JK (S), yang secara umum dihitung menggunakan rumus :

$$JK(Reg) = b_1 \sum x_1 y + b_2 \sum x_2 y + \dots + b_k x_k y$$

$$JK(S) = \sum y^2 - JK(Reg)$$

$\sum y^2$ merupakan jumlah kuadrat-kuadrat total dikoreksi, JK(TD), yang besarnya adalah $\sum y^2 = \sum Y^2 - \frac{(\sum Y)^2}{n}$
Masing-masing JK diatas memiliki derajat kebebasan (dk), yang besarnya k untuk JK(Reg) dan (n-k-1) untuk JK(S), selanjutnya :

$$F = \frac{JK(Reg)/k}{JK(S)/(n-k-1)}$$

Jika harga F yang dihitung dari persamaan diatas disebut dengan F_{hitung} melebihi F_{tabel} dari daftar distribusi F dengan taraf nyata yang dipilih, maka

disimpulkan bahwa regresi berarti. Dalam hal lainnya, regresi dinyatakan tidak berarti.

Seperti halnya dalam menguji regresi linear sederhana, semua jumlah kuadrat (JK) untuk sumber variasi tersebut diatas dapat disajikan dalam sebuah tabel, ialah tabel Anava sehingga pengujian keberartian regresi mudah dilakukan dan dipelajari. Menggunakan JK yang disebutkan diatas, dalam bentuk notasi matriks, diperoleh tabel Anava sebagai berikut:

Sumber Variasi	dk	JK	KT	F
Total	n	$\underline{Y}'\underline{Y}$		
Koefisien (b_0)	1	$n\bar{Y}^2$	JK(Reg)/k JK(S)/(n-k-1)	KT(Reg) KT(S)
Total Dikoreksi (TD)	n-1	$\underline{Y}'\underline{Y} - n\bar{Y}^2$		
Regresi (Reg)	k	$b'(\underline{X}'\underline{Y}) - n\bar{Y}^2$		
Sisa (S)	n-k-1	JK(TD)-JK(Reg)		

Tabel diatas memungkinkan untuk pengujian hipotesis nol, selanjutnya $F = \frac{KT(Reg)}{KT(S)}$ dalam kolom terakhir tabel diatas, dengan dk pembilang=k (banyaknya variabel bebas dalam model) dan dk penyebut = (n-k-1). Jika harga F ini lebih besar dari harga F yang diperoleh dari tabel distribusi F dengan dk yang sesuai dan taraf nyata yang dipilih, berarti tolak hipotesa nol.

BAB III

M E T O D O L O G I

3.1. Alat

pH meter diperlukan pada analisa fisik untuk mengukur pH cuplikan. Pada analisa mikrobiologis digunakan autoklaf untuk sterilisasi alat, cawan petri untuk penumbuhan, dan inkubator dibutuhkan untuk menginkubasi bakteri. Pada penumbuhan bakteri asam laktat dibutuhkan jarum ose untuk menoreh bakteri, nyala spiritus untuk mensterilkan jarum ose, kaca preparat, dan mikroskop. Untuk menganalisa logam, destruksi cuplikan menggunakan tanur dan cawan silika, sedang untuk analisa dengan SSA digunakan lampu tabung untuk logam Sn, Fe, dan Zn.

3.2. Bahan

Dalam penelitian ini digunakan empat buah cuplikan ikan dalam kaleng (mackarel) yang berasal dari satu merek dagang dengan masa kadaluarsa masing-masing berselisih tiga bulan, yaitu bulan Januari 1995, April 1995, Juli 1995, dan Oktober 1995, dimana analisa dilakukan pada bulan Maret 1995. Cuplikan yang mempunyai waktu kadaluarsa paling akhir mengalami masa simpan yang masih singkat dibandingkan cuplikan lain, sebaliknya dengan cuplikan yang mempunyai waktu kadaluarsa paling awal mengalami masa simpan paling lama. Berdasar masa simpannya, cuplikan dibagi atas cuplikan dengan masa simpan 0, 3, 6, dan 9 bulan.

Untuk analisis mikrobiologi digunakan nutrien agar dengan komposisi terlampir, dan untuk menumbuhkan bakteri asam laktat

digunakan agar APT (Acid Producing Test). Untuk analisa selanjutnya digunakan kristal violet sebagai pengidentifikasi bakteri. Untuk analisa logam, destruksi cuplikan menggunakan HNO_3 1 N dan HCl 1 N. Selanjutnya untuk analisa dengan SSA digunakan bahan bakar udara-asetilen, larutan standar logam Sn, Fe, dan Zn 1000 ppm, aqua d.m. sebagai pelarut dan pembilas.

3.3. Cara Kerja

3.3.1. Analisa Fisik

Cuplikan diamati kondisi kaleng, kenampakan, bau, pH, dan mikrobiologis cuplikan. Untuk analisa mikrobiologis digunakan nutrient agar sebagai medium. Mula-mula alat-alat disterilisasi dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Cuplikan diambil 1 mL dan diencerkan hingga 10 mL dengan pepton 0,1 %; diulang lagi hingga pengenceran 1000 kali. Dari masing-masing pengenceran diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam cawan petri, dalam hal ini untuk masing-masing pengenceran digunakan tiga cawan petri. Kemudian ke dalam cawan tersebut dimasukkan nutrient agar cair steril yang telah didinginkan sampai 47°C sebanyak 15 mL. Selama penuangan, tutup cawan petri tidak boleh dibuka terlalu lebar untuk menghindari kontaminasi. Setelah penuangan cawan petri digerakkan dengan gerakan melingkar untuk meratakan penyebaran bakteri. Setelah agar memadat, cawan diinkubasi dalam inkubator dengan posisi terbalik. Inkubasi dilakukan selama dua hari pada suhu 32°C . Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah bakteri.

3.3.2. Analisa Bakteri Asam Laktat

a. Penghitungan Jumlah Bakteri Asam Laktat

Analisa ini dilakukan dengan metode tuang menggunakan Acid Producing Test (APT) agar. Terlebih dahulu alat-alat disterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C selama 15 menit. Cuplikan diambil 1mL dan diencerkan hingga 10 mL dengan pepton 0,1 %; diulang lagi hingga pengenceran 1000 kali, masing-masing pengenceran diambil 1 mL dan dimasukkan ke dalam cawan petri, seperti halnya analisa mikrobiologi untuk masing-masing pengenceran digunakan tiga cawan petri. Selanjutnya APT agar cair sebanyak 15 mL yang telah disterilkan dan telah menurun suhunya hingga 47°C dituangkan ke dalam ketiga cawan tersebut, cawan ditutup kembali dan digerakkan melingkar hingga agar memadat. Setelah agar memadat, cawan diinkubasi dalam inkubator dengan posisi terbalik. Inkubasi dilakukan selama dua hari pada suhu 32°C. Selanjutnya dilakukan perhitungan jumlah bakteri dengan metode hitungan cawan dan identifikasi bentuk bakteri dengan menggunakan metode pengecatan sederhana.

b. Identifikasi Bakteri

Koloni hasil penumbuhan ditoreh dengan jarum dan digoreskan pada gelas obyek steril. Dibasahi dengan aquades steril sebanyak 1 tetes dan dilakukan fiksasi di atas nyala api spiritus. Selanjutnya dilakukan pewarnaan dengan kristal violet, lalu didiamkan 1 menit. Gelas obyek dimiringkan dan dialiri dengan aquades steril, kelebihan aquades diserap dengan tissue dan dibiarkan kering. Hasil diamati dengan mikroskop dengan pembesaran hingga 1000 kali.

3.3.3. Analisa Logam

3.3.3.1. Persiapan Sampel

25 gram cuplikan dikeringkan dalam oven. Hasil yang telah kering dimasukkan ke dalam cawan silika, kemudian diabukan selama 6 jam pada 550°C . Abu yang dihasilkan dibasahi dengan aqua d.m. kemudian didestruksi dengan 3 mL HNO_3 1 N, selanjutnya dikeringkan diatas penangas listrik. Setelah kering, diabukan lagi selama dua jam pada suhu 550°C . Hasil yang berupa abu putih dilarutkan dalam 10 mL HCl 1 N, dipanaskan hingga abu terlarut, kemudian didinginkan. Setelah larutan dingin disaring, filtrat yang dihasilkan diencerkan hingga 25 mL. Hasil akhir ini diukur absorbansinya sesuai dengan panjang gelombang logam yang diukur, dimana panjang gelombang maksimum untuk $\text{Zn} = 213,9 \text{ nm}$; $\text{Sn} = 286,3 \text{ nm}$; dan $\text{Fe} = 248,3 \text{ nm}$.

3.3.3.2. Analisa Kuantitatif

- Pembuatan Larutan Standar

1. Larutan standar Zn

Larutan standar Zn 1000 ppm diencerkan hingga konsentrasi 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8; 1,0; 1,2; 1,4; 1,6; 1,8; dan 2,0 ppm.

2. Larutan standar Sn

Larutan standar Sn 1000 ppm diencerkan hingga konsentrasi 1; 2; 4; 6; 8; dan 10 ppm.

3. Larutan standar Fe

Larutan standar Fe 1000 ppm diencerkan hingga konsentrasi 4; 8; 12; 16; 20; 24; 28; 32; 36; dan 40 ppm

- Pembuatan Kurva Kalibrasi

Larutan standar Zn, Fe dan Sn diukur pada λ serapan maksimumnya

Hasil pengukuran digunakan untuk membuat kurva standar.

- Penentuan Konsentrasi

Cuplikan yang telah dipersiapkan diukur absorbansinya pada panjang gelombang masing-masing logam. Nilai absorbansi yang didapat diplotkan pada kurva standar, maka diperoleh besar konsentrasi logam.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1. Analisa Fisik

Analisa fisik dilakukan untuk mengetahui kondisi fisik masing-masing cuplikan, karena penelitian ini dilakukan terhadap cuplikan yang mempunyai kondisi fisik normal. Parameter yang digunakan meliputi kondisi kaleng, kenampakan, bau, pH, dan keadaan mikrobiologi cuplikan.

Pengamatan terhadap kondisi kaleng semua cuplikan menunjukkan kondisi yang baik, tidak bocor, tidak kembung, tidak berkarat, tidak bernoda dan tidak kusam pada permukaan dalam, serta lipatan kaleng baik. Tetapi terdapat sedikit perbedaan pada cuplikan dengan masa penyimpanan 6 bulan, dimana pada permukaan dalam sedikit lebih kusam dari pada yang lain. Sedangkan kekerasan dan warna ikan termasuk normal, kuahnya berwarna kuning kemerahan. Baunya normal, tidak kecut atau busuk. Nilai pH-nya masih berkisar pada nilai pH makanan dengan keasaman rendah (5 - 6,8). Hasil pengukuran pH diperlihatkan oleh tabel IV.1.

Masa Penyimpanan (bulan)	Pengukuran	pH
0	1	5.57
	2	5.47
	3	5.49
3	1	5.41
	2	5.44
	3	5.42
6	1	5.62
	2	5.64
	3	5.61
9	1	5.38
	2	5.40
	3	5.38

Tabel IV.1. Besar pH selama penyimpanan

Selanjutnya dilakukan analisa mikrobiologi untuk mengetahui jumlah bakteri dalam cuplikan selama penyimpanan, dimana hasilnya ditunjukkan oleh tabel berikut :

Masa Penyimpanan (bulan)	Pengamatan	Pengenceran		Jumlah bakteri per gram
		100 x	1000 x	
0	1	10	1	$10 \cdot 10^2$
	2	4	0	$4 \cdot 10^2$
	3	4	0	$4 \cdot 10^2$
3	1	4	0	$4 \cdot 10^2$
	2	7	1	$7 \cdot 10^2$
	3	5	1	$5 \cdot 10^2$
6	1	2	0	$2 \cdot 10^2$
	2	4	0	$4 \cdot 10^2$
	3	3	0	$3 \cdot 10^2$
9	1	5	0	$5 \cdot 10^2$
	2	10	1	$10 \cdot 10^2$
	3	7	1	$7 \cdot 10^2$

Tabel IV.2. Jumlah bakteri selama penyimpanan

Dalam analisa ini suasana steril sangat dibutuhkan sehingga perlu dilakukan sterilisasi terhadap alat- alat yang digunakan untuk mematikan

bakteri kontaminan. Penghitungan jumlah bakteri per gram dalam cuplikan dilakukan dengan metode hitungan cawan, dimana penghitungan dilakukan pada pengenceran 100 kali

Analisa mikrobiologi menunjukkan jumlah bakteri pada semua cuplikan tergolong sedikit karena kurang dari 30 untuk tiap pengencerannya. Dari keempat macam analisa tersebut dapat disimpulkan bahwa keempat cuplikan mempunyai kondisi fisik normal, tidak ada yang rusak.

4.2. Analisa Bakteri Asam Laktat

Analisa terhadap bakteri asam laktat terhadap masing-masing cuplikan ditunjukkan oleh tabel di bawah ini.

Masa Penyimpanan (bulan)	Pengamatan	Pengenceran		Jumlah bakteri per gram
		100 x	1000 x	
0	1	1	0	$1 \cdot 10^2$
	2	3	0	$3 \cdot 10^2$
	3	5	1	$5 \cdot 10^2$
3	1	1	0	$1 \cdot 10^2$
	2	2	0	$2 \cdot 10^2$
	3	3	0	$3 \cdot 10^2$
6	1	7	1	$7 \cdot 10^2$
	2	6	1	$6 \cdot 10^2$
	3	6	1	$6 \cdot 10^2$
9	1	1	0	$1 \cdot 10^2$
	2	2	0	$2 \cdot 10^2$
	3	3	0	$2 \cdot 10^2$

Tabel IV.3. Jumlah bakteri asam laktat selama penyimpanan

Penghitungan jumlah bakteri per gram dalam cuplikan dilakukan dengan metode hitungan cawan, dimana penghitungan dilakukan pada pengenceran 100 kali.

Analisa menunjukkan jumlah bakteri asam laktat untuk tiap pengenceran kurang dari 30, dimana jumlah ini termasuk sedikit.

Dengan metode pewarnaan diketahui bahwa bakteri asam laktat yang terdapat dalam cuplikan adalah streptococcus. Pengamatan menunjukkan kesesuaian hasil pengamatan dengan ciri-ciri bakteri tersebut menurut teori.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa bakteri menyerap zat warna kristal violet yang menunjukkan ciri bakteri gram positif. Dari pengamatan di bawah mikroskop dengan pembesaran 1000 kali diketahui bakteri berbentuk bulatan dan berantai, dimana bakteri asam laktat yang berbentuk seperti ini adalah jenis streptococcus, yaitu jenis bakteri asam laktat homofermentatif. Berdasar identifikasi ini dapat diduga hanya asam laktat yang dihasilkan dari fermentasi bakteri asam laktat, tanpa hasil samping, seperti alkohol, asam asetat, dan asam-asam lainnya.

Jika jumlah bakteri asam laktat diplotkan terhadap masa simpan cuplikan, dari cuplikan diperoleh persamaan regresi $Y = 319,9 + 1,13 X$ dengan $r = 0,0206$; adapun grafik terlampir. Nilai r sebesar itu menunjukkan korelasi yang sangat rendah antara jumlah bakteri dengan masa simpan cuplikan.

Dari data dapat dilihat bahwa pada cuplikan dengan masa simpan 6 (enam) bulan jumlah bakteri asam laktat adalah yang terbanyak. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh kurang sempurnanya proses pengolahan sehingga bakteri asam laktat baik yang berasal dari bahan mentah maupun yang mengkontaminasi selama proses pengolahan tetap bertahan hidup. Tersedianya substrat dan komponen yang meningkatkan resistensi bakteri terhadap panas merupakan penyebab bertahannya bakteri asam

laktat hingga produk dipasarkan. Terciptanya kondisi yang baik selama pemasaran menyebabkan bakteri asam laktat tumbuh dan berfermentasi menghasilkan asam laktat yang dapat menurunkan pH .

Jika kita hubungkan antara jumlah bakteri dengan besar pH didapat persamaan regresi $Y = 5,3731 + 0,0347 X$ dengan harga korelasi sebesar $r = 0,7684$; dimana grafik terlampir. Persamaan ini menunjukkan bahwa terdapat korelasi yang positif antara jumlah bakteri dengan pH, sedangkan seharusnya yang terjadi adalah korelasi negatif karena jumlah bakteri adalah berbanding terbalik dengan besar pH karena asam yang dihasilkan oleh bakteri asam laktat akan menurunkan pH.

Terjadinya korelasi positif antara jumlah bakteri dengan besarnya pH menunjukkan bahwa keasaman makanan tidak hanya dipengaruhi oleh asam laktat hasil fermentasi bakteri, tetapi ada faktor lain.

Kemungkinan faktor -faktor lain tersebut adalah :

- Adanya bakteri penghasil senyawa yang bersifat basa, misalnya bakteri proteus yang menghasilkan amina, sehingga pH tidak turun pada saat jumlah bakteri asam laktat banyak.
- Tidak tercapainya kondisi optimum dari bakteri asam laktat untuk berfermentasi menghasilkan asam laktat, sehingga keasaman disebabkan oleh faktor lain, misalnya hidrolisa lemak yang menghasilkan asam lemak.

4.3. Analisa Logam

Dalam penelitian ini, dianalisa tiga macam logam; Fe, Sn, dan Zn dengan menggunakan SSA (Spektrofotometer Serapan Atom). Adapun hasil yang diperoleh :

Waktu (bulan)	0	3	6	9
Logam (ppm)				
Zn	3,598	4,266	5,733	2,965
	4,032	3,765	5,033	4,499
	3,832	4,032	6,667	2,764
Sn	9,660	6,891	10,525	9,140
	9,660	6,372	9,486	9,486
	9,660	7,064	8,794	7,064
Fe	25,762	27,447	42,859	24,558
	25,762	21,427	40,451	20,705
	26,484	10,350	32,263	19,983

Tabel IV.4. Konsentrasi logam selama penyimpanan

Dari tabel dapat dilihat bahwa konsentrasi logam tertinggi untuk masing-masing logam terjadi pada masa penyimpanan 6 (enam) bulan.

Untuk mengetahui hubungan antara konsentrasi logam dengan waktu dan jumlah bakteri maka digunakan metode analisa regresi ganda karena metode ini membahas hubungan antara sebuah peubah tak bebas dengan dua buah atau lebih peubah bebas dalam bentuk regresi, dan regresi sederhana untuk membahas adanya hubungan antara sebuah peubah tak bebas dan sebuah peubah bebas.

4.3.1. Pengaruh Jumlah Bakteri dan Waktu terhadap Konsentrasi Logam

a. Logam Fe

Analisa dengan metode regresi ganda dilakukan dengan ketentuan sebagai berikut :

- Y = konsentrasi logam Fe (ppm)
- X_1 = jumlah bakteri (10^2 per gram)
- X_2 = waktu (bulan)

Dari perhitungan dengan bantuan program statistik Minitab seperti dalam lampiran maka didapatkan nilai korelasi sebagai berikut :

- Nilai korelasi antara konsentrasi logam dengan jumlah bakteri sebesar 0,684.
- Nilai korelasi antara konsentrasi logam dengan waktu sebesar 0,079.
- Nilai korelasi antara jumlah bakteri dengan waktu sebesar 0,018.

Data menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi logam dengan jumlah bakteri dengan nilai korelasi 0,684; sedangkan korelasi waktu terhadap jumlah bakteri dan konsentrasi logam mempunyai nilai korelasi yang rendah.

Analisa lebih lanjut hanya dilakukan untuk hubungan antara konsentrasi dengan jumlah bakteri dengan metode regresi sederhana, dimana menghasilkan persamaan regresi berikut :

$$Y = 17,5 + 2,78 X$$

dengan koefisien korelasi 0,468 dan ditunjukkan oleh grafik terlampir.

Uji keberartian dengan menggunakan tabel anava menunjukkan nilai F_{hitung} sebesar 8,81 dan F_{tabel} sebesar 4,96, maka F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} yang berarti tolak H_0 atau hipotesa diterima yang menunjukkan

adanya korelasi antara konsentrasi logam dengan jumlah bakteri. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi logam Fe dipengaruhi oleh banyaknya jumlah bakteri tanpa dipengaruhi oleh masa penyimpanan.

b. Logam Zn

Analisa dengan metode regresi ganda dilakukan dengan ketentuan sebagai berikut :

- Y = konsentrasi logam Zn (ppm)
- X_1 = jumlah bakteri (10^2 per gram)
- X_2 = waktu (bulan)

Dari perhitungan dengan bantuan program statistik Minitab seperti dalam lampiran maka didapatkan korelasi sebagai berikut :

- Nilai korelasi antara konsentrasi logam dengan jumlah bakteri sebesar 0,783.
- Nilai korelasi antara konsentrasi logam dengan waktu sebesar 0,152.
- Nilai korelasi antara jumlah bakteri dengan waktu sebesar 0,018.

Data menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi logam dengan jumlah bakteri dengan nilai korelasi 0,783; sedangkan korelasi waktu terhadap jumlah bakteri dan konsentrasi logam mempunyai nilai korelasi yang rendah.

Analisa lebih lanjut hanya dilakukan untuk hubungan antara konsentrasi dengan jumlah bakteri dengan metode regresi sederhana dimana menghasilkan persamaan regresi berikut :

$$Y = 2,78 + 0,43 X$$

dengan koefisien korelasi 0,613 dan ditunjukkan oleh grafik terlampir.

Uji keberartian dengan menggunakan tabel anava menunjukkan

nilai F_{hitung} sebesar 15,84 dan F_{tabel} sebesar 4,96, maka F_{hitung} lebih besar dari F_{tabel} yang berarti tolak H_0 atau hipotesa diterima yang menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi logam dengan jumlah bakteri. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi logam Zn dipengaruhi oleh banyaknya jumlah bakteri tanpa dipengaruhi oleh masa penyimpanan.

c. Logam Sn

Analisa dengan metode regresi ganda dilakukan dengan ketentuan sebagai berikut :

- Y = konsentrasi logam Sn (ppm)
- X_1 = jumlah bakteri (10^2 per gram)
- X_2 = waktu (bulan)

Dari perhitungan dengan bantuan program statistik Minitab seperti dalam lampiran maka didapatkan korelasi sebagai berikut :

- Nilai korelasi antara konsentrasi logam dengan jumlah bakteri sebesar 0,477.
- Nilai korelasi antara konsentrasi logam dengan waktu sebesar -0,039.
- Nilai korelasi antara jumlah bakteri dengan waktu sebesar 0,018.

Data menunjukkan adanya korelasi antara konsentrasi logam dengan jumlah bakteri dengan nilai korelasi 0,477; sedangkan korelasi waktu terhadap jumlah bakteri dan konsentrasi logam mempunyai nilai korelasi yang rendah.

Analisa lebih lanjut hanya dilakukan untuk hubungan antara konsentrasi dengan jumlah bakteri dengan metode regresi sederhana dimana menghasilkan persamaan regresi berikut :

$$Y = 7,65 + 0,306 X$$

dengan koefisien korelasi 0,228 dan ditunjukkan oleh grafik terlampir.

Uji keberartian dengan menggunakan tabel anava menunjukkan nilai F_{hitung} sebesar 2,95 dan F_{tabel} sebesar 4,96, maka F_{hitung} lebih kecil dari F_{tabel} yang berarti terima H_0 atau hipotesa ditolak yang berarti bahwa tidak ada korelasi antara konsentrasi logam dengan jumlah bakteri. Dengan demikian dapat disimpulkan bahwa konsentrasi logam tidak dipengaruhi oleh banyaknya jumlah bakteri maupun masa penyimpanan.

4.3.2. Pengaruh Jumlah Bakteri terhadap Konsentrasi Logam

Analisa yang telah dilakukan terhadap ketiga logam tersebut menunjukkan pengaruh jumlah bakteri terhadap konsentrasi logam, dimana korelasi terbesar terjadi pada logam Zn sebesar 0,783; kemudian Fe sebesar 0,684; dan yang terakhir adalah Sn dengan korelasi sebesar 0,477.

Korelasi antara jumlah bakteri dengan konsentrasi masing-masing logam tidak terlepas dari potensial elektroda logam dan nilai pH cuplikan.

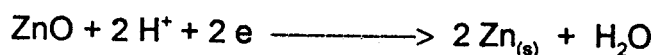
a. Pengaruh potensial elektroda

- Logam Zn

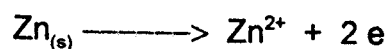
Zn dengan potensial elektrode sebesar -0,763 volt merupakan lapisan yang paling mudah teroksidasi dibanding dengan logam lain,

dimana hal ini ditunjukkan oleh nilai korelasinya terhadap jumlah bakteri adalah yang terbesar, yaitu sebesar 0,783.

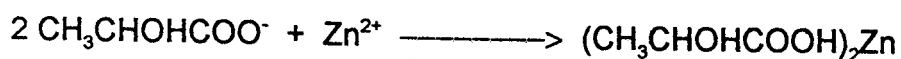
Zn dalam bentuk oksida, yaitu ZnO merupakan pelapis logam yang langsung bersentuhan dengan makanan mempunyai kemungkinan terbesar untuk dipengaruhi oleh keasaman makanan. Asam laktat hasil fermentasi berkorelasi untuk membentuk suasana asam pada reduksi ZnO, dimana reaksinya adalah sebagai berikut :



Zn hasil reaksi reduksi tersebut selanjutnya dapat mengalami oksidasi membentuk Zn^{2+} , dengan reaksi :



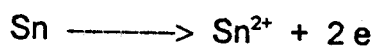
Berdasar teori yang menyatakan bahwa Zn dan asam laktat dapat membentuk garam, maka diduga terjadi garam $(\text{CH}_3\text{CHOHCOOH})_2\text{Zn}$, dengan reaksi :



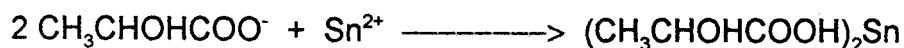
• Logam Sn

Logam Sn berkorelasi terhadap jumlah bakteri dengan nilai korelasi 0,477; nilai yang paling kecil dibanding logam lain. Kecilnya korelasi logam Sn dengan jumlah bakteri dapat kita hubungkan dengan potensial elektroda logam ini, yaitu sebesar -0,136 volt yang merupakan potensial elektrda standar terbesar dibanding logam lain.

Reaksi oksidasi Sn dalam kondisi asam adalah sebagai berikut :



Sn^{2+} diduga dapat membentuk garam dengan asam laktat, yaitu $(\text{CH}_3\text{CHOHCOOH})_2\text{Sn}$ dengan reaksi :

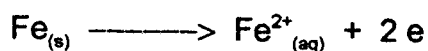


- **Logam Fe**

Selanjutnya adalah korelasi antara Fe dengan jumlah bakteri asam laktat yang mempunyai nilai 0,684. Adapun potensial elektroda Fe adalah -0,440 volt. Karena potensial elektroda yang lebih kecil daripada Sn, maka jika Sn teroksidasi lebih dahulu dan membentuk sedikit lubang saja, oksidasi Fe akan lebih cepat terjadi.

Seperti yang telah digambarkan dalam teori bahwa diantara timah dan baja terdapat pelapis FeSn. Pelapis ini berfungsi untuk memperkecil kemungkinan hubungan langsung timah dengan baja. Jika lapisan alloy ini rusak dan membentuk lubang maka reaksi redoks pada baja kemungkinan dapat terjadi.

Besi sebagai bahan dasar baja dapat teroksidasi dalam suasana asam dengan adanya ion hidrogen dari asam laktat dengan reaksi sebagai berikut :



Fe^{2+} yang dihasilkan dari reaksi tersebut dapat bereaksi dengan asam laktat membentuk garam $(\text{CH}_3\text{CHOHCOOH})_2\text{Fe}$ dengan reaksi :



Dengan demikian hubungan antara potensial elektroda ketiga logam tersebut dengan nilai korelasi jumlah bakteri terhadap konsentrasi logam dinyatakan dalam tabel IV.5.

Jenis logam	Potensial Elektroda (volt)	Nilai korelasi jumlah bakteri terhadap konsentrasi logam.
Sn	-0,136	0,477
Fe	-0,440	0,684
Zn	-0,763	0,783

Tabel IV. 5. Hubungan antara potensial elektroda dengan nilai korelasi jumlah bakteri terhadap konsentrasi logam

Hubungan antara nilai korelasi bakteri dengan konsentrasi logam terhadap nilai potensial elektroda adalah semakin kecil (semakin negatif) nilai potensial elektroda logam maka semakin besar nilai korelasi jumlah bakteri terhadap konsentrasi logam. Hal itu disebabkan semakin kecil potensial elektroda logam maka semakin besar kemungkinan logam teroksidasi dalam suasana asam.

b. Pengaruh pH

Selanjutnya jika nilai korelasi jumlah bakteri terhadap konsentrasi logam dihubungkan dengan besar pH cuplikan, dengan persamaan regresi didapat korelasi berikut :

- Logam Zn : $Y = -40,7520 + 8,2061 X$

$$r = 0,7288$$

- Logam Sn : $Y = -35,5489 + 8,0565 X$

$$r = 0,5664$$

- Logam Fe : $Y = -366,4070 + 71,6229 X$

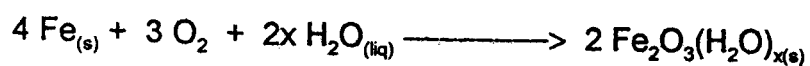
$$r = 0,7952$$

Dari perhitungan tersebut diketahui bahwa hubungan antara konsentrasi masing-masing logam dengan pH mempunyai nilai korelasi positif sedangkan seharusnya nilai korelasi itu negatif karena semakin rendah pH (makin asam) kelarutan logam makin besar.

Terjadinya korelasi positif antara konsentrasi masing-masing logam dengan besar pH disebabkan oleh adanya faktor lain selain asam yang menyebabkan kelarutan logam yaitu :

- Adanya air, dimana air merupakan salah satu komponen pada ikan dalam kaleng.
- Proses pengeluaran udara dari dalam kaleng yang tidak sempurna sehingga masih tersisa oksigen di dalam kaleng.

Adanya air dan oksigen menyebabkan terjadinya oksidasi logam, sebagai contoh reaksi adalah sebagai berikut :



4.3.3. Pengaruh Waktu terhadap Konsentrasi Logam

Seperti telah diketahui bahwa nilai korelasi waktu terhadap konsentrasi logam adalah kecil, sehingga dianggap konsentrasi logam tidak berkorelasi dengan waktu. Adanya korelasi antara ketiga logam tersebut dengan jumlah bakteri tanpa adanya korelasi dengan waktu menunjukkan bahwa bakteri asam laktat akan berpengaruh pada konsentrasi logam tanpa dipengaruhi oleh semakin lamanya masa penyimpanan. Pengaruh bakteri asam laktat terhadap konsentrasi logam pada saat tertentu diduga disebabkan oleh terciptanya kondisi lingkungan yang optimum bagi pertumbuhan bakteri asam laktat pada cuplikan dengan masa penyimpanan tertentu yang menyebabkan produk asam laktat menjadi maksimal. Hal ini memungkinkan terlarutnya logam oleh asam laktat akan makin besar.

Gejala itu dapat kita lihat bahwa jumlah bakteri dan konsentrasi tertinggi untuk masing-masing logam Fe, Zn, dan Sn terjadi pada cuplikan

pada masa penyimpanan 6 bulan. Hal ini juga diperlihatkan oleh penampilan fisik kalengnya yang terlihat lebih kusam daripada cuplikan lain.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1. Kesimpulan

- Ikan dalam kaleng dengan masa penyimpanan 0, 3, 6, dan 9 bulan mempunyai kondisi fisik yang baik .
- Pada ikan dalam kaleng terdapat bakteri asam laktat jenis streptococcus dan logam Fe, Zn, serta Sn.
- Dengan metoda analisa regresi linear sederhana dan ganda diketahui bahwa :
 - Konsentrasi logam Fe, Zn, dan Sn dipengaruhi oleh jumlah bakteri asam laktat tetapi tidak dipengaruhi oleh lamanya masa penyimpanan.
 - Oksidasi logam kemasan kaleng dipengaruhi oleh potensial elektroda logam tetapi tidak dipengaruhi oleh nilai pH.
 - Pengaruh bakteri asam laktat terhadap konsentrasi logam pada saat tertentu diduga disebabkan oleh terciptanya kondisi optimal bagi pertumbuhan bakteri pada saat tertentu. Pada kondisi optimum, diduga produk asam laktat menjadi maksimal dimana kemungkinan terlarutnya logam oleh asam laktat semakin besar.

5.2. Saran

- Perlu dilakukan analisa lebih lanjut terhadap konsentrasi asam laktat.
- Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut yang mengkorelasikan secara langsung konsentrasi asam laktat terhadap konsentrasi logam pada ikan dalam kaleng selama masa penyimpanan.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, Hiskia, (1990), *Elektrokimia*, Jurusan Kimia - FMIPA, ITB.
- Basset, et. al., (1978), *Vogel's Textbook of Quantitative Inorganic Analysis*, 4th ed., Longman, London.
- Board, P.W., (1973), *The Chemistry of Nitrate-induced Corrosion of Tinplate*, Symposium Nitrates in Canned Foods, Food Technology in Australia, Vol. 3, No. 2, September, New South Wales.
- Buckle, et.al., (1987), *Ilmu Pangan*, diterjemahkan oleh Hari P dan Adiono, cetakan II, UI Press, Jakarta.
- Cantle, et.al, (1982), *Atomic Absorption Spectrophotometer, Techniques and Instrumentation in Analytical Chemistry*, vol. 5, Elsevier Scientific Publishing Company, New York.
- Frazier, et.al., (1986), *Food Microbiology*, 4th ed, Mc Graw Hill Book Company.
- Gaude, et.al., (1981), *Microbiology for Environmental Scientist and Engineers*, Mc. Graw Hill Int. Book Comp, New York.
- Hadioetomo, (1985), *Mikrobiologi Dasar dalam Praktek*, Lab. Mikrobiologi FMIPA IPB, PT. Gramedia, Jakarta.
- Hersom, et.al., (1964), *Canned Food an Introduction to Their Microbiology*, 5th ed., Chemical Publishing Company, Inc., New York.
- Hines, W.W., Montgomery, D.C., *Probabilita dan Statistik dalam Ilmu Rekayasa dan Manajemen*, Edisi Kedua, diterjemahkan oleh Rudiansyah, UI Press, 1990
- Moeljanto, Drs., (1982), *Pengalengan Ikan*, PT. Penebar Swadaya, cetakan ke 2, Jakarta.
- Murrell W.G., (1978), *The Spoilage of Canned Food*, Food Technology in Australia, Vol. 5, No. 3, Januari, New South Wales.
- Othmer-Kirk, (1979), *Encyclopedia of Chemical Technology*, Vol. 20, 3th ed., John Wiley & Sons, New York.
- Potter, Norman., (1968), *Food Science*, Avi Pub. Comp, Connecticut.
- Stannier, et.al., (1957), *The Mikrobial World*, Prentice-Hall Inc., New York.

Sudjana, (1992), *Teknik Analisis Regresi dan Korelasi*, edisi III, Penerbit Tarsito, Bandung.

Suzuki, Ichiro., et.al, (1989), *Corrosion-Resistant Coating Technology*, Marcel Dekker Inc, New York.

Walpole, R.E.and Myers, R.H, (1986), *Ilmu Peluang dan Statistika untuk Insinyur dan Ilmuwan*, terbitan ke-2, Penerbit ITB, Bandung.

LAMPIRAN A

KOMPOSISI MEDIUM

A.1. Nutrient Agar

- Komposisi :

- Ekstrak daging sapi 3 gram
- Pepton 5 gram
- Agar 15 gram

- Cara pembuatan :

Komponen dimasukkan dalam 1 liter aquabides, lalu dididihkan. Hasilnya didinginkan hingga 50°C dan diatur pH-nya hingga 6,8 dengan penambahan NaOH atau HCl.

A.2. Acid Producing Test (APT) Agar

- Komponen :

- Tripton 10 gram
- Ekstrak ragi 7,5 gram
- K_2PO_4 5 gram
- NaCl 5 gram
- Na-sitrat 5 gram
- Na_2CO_3 1,25 gram
- Tiamin 0,0001gram
- Dekstrose 10 gram
- Tween 80 0,2 gram

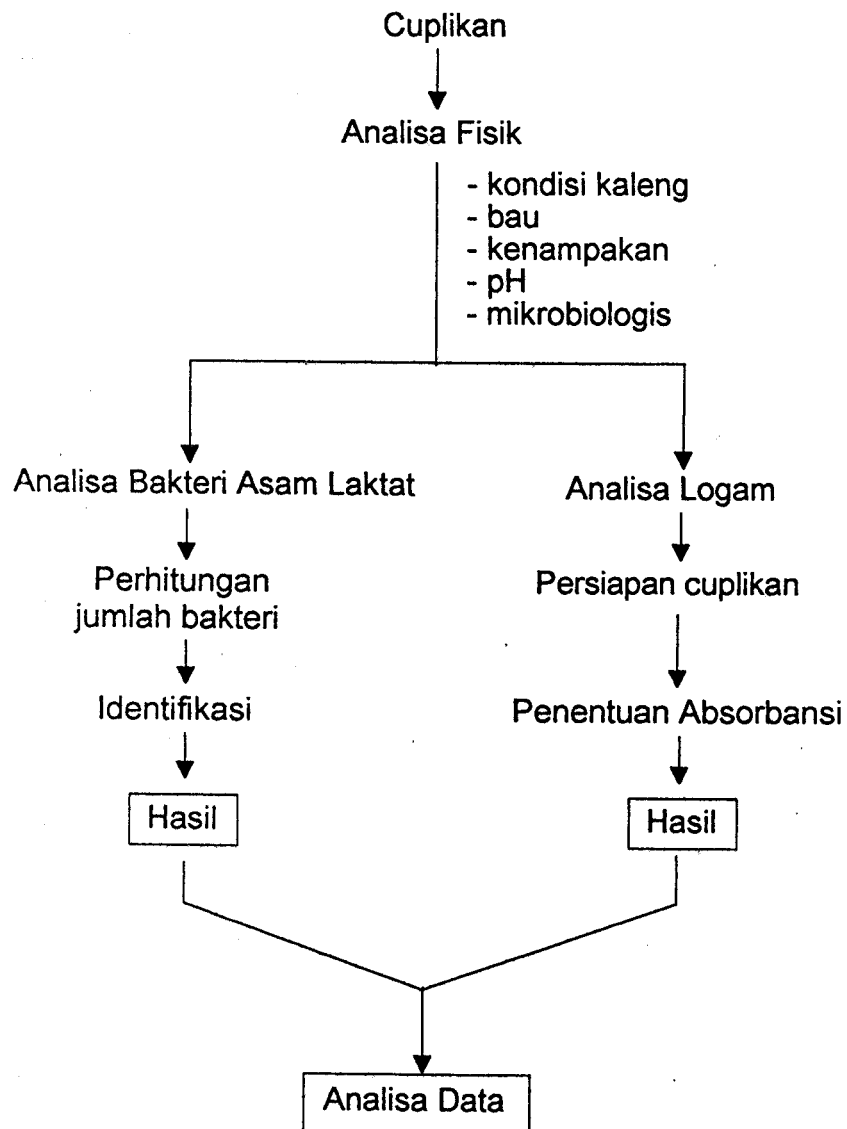
◦ MgSO_4	0,8	gram
◦ MnCl_2	0,14	gram
◦ FeSO_4	0,04	gram
◦ Agar	15	gram

- Cara pembuatan :

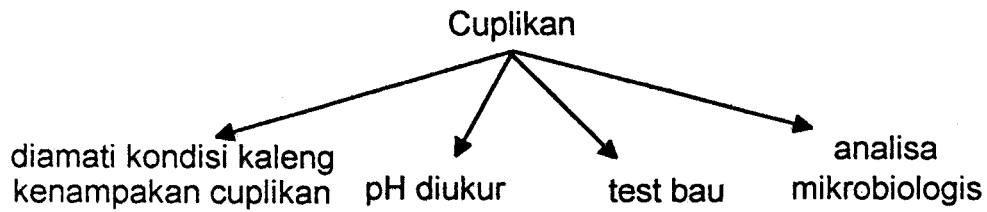
Komponen dimasukkan dalam 1 liter aquabides, lalu dididihkan. Hasilnya didinginkan hingga 50°C dan diatur pH-nya hingga 6,7 dengan penambahan NaOH atau HCl.

LAMPIRAN B

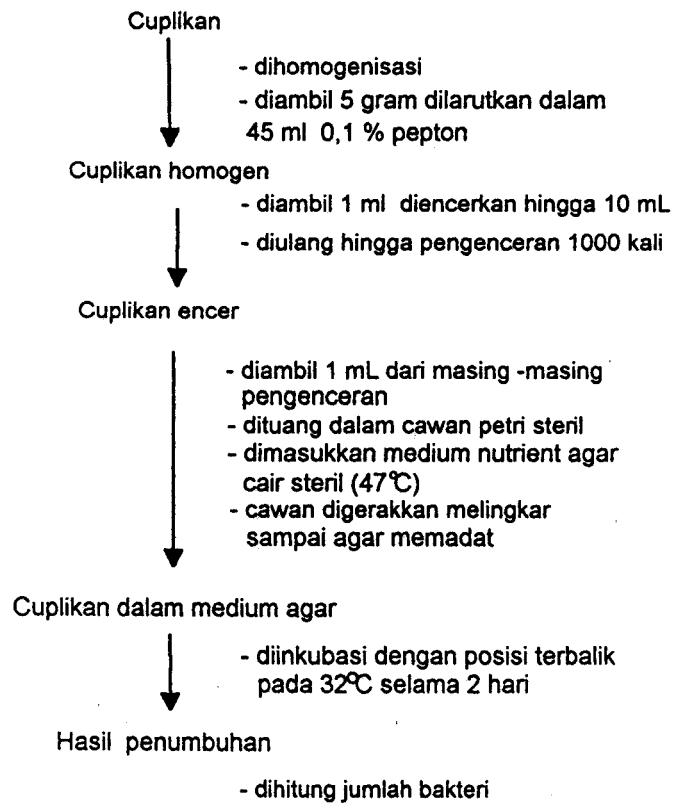
SKEMA KERJA



B.1. Analisa Fisik



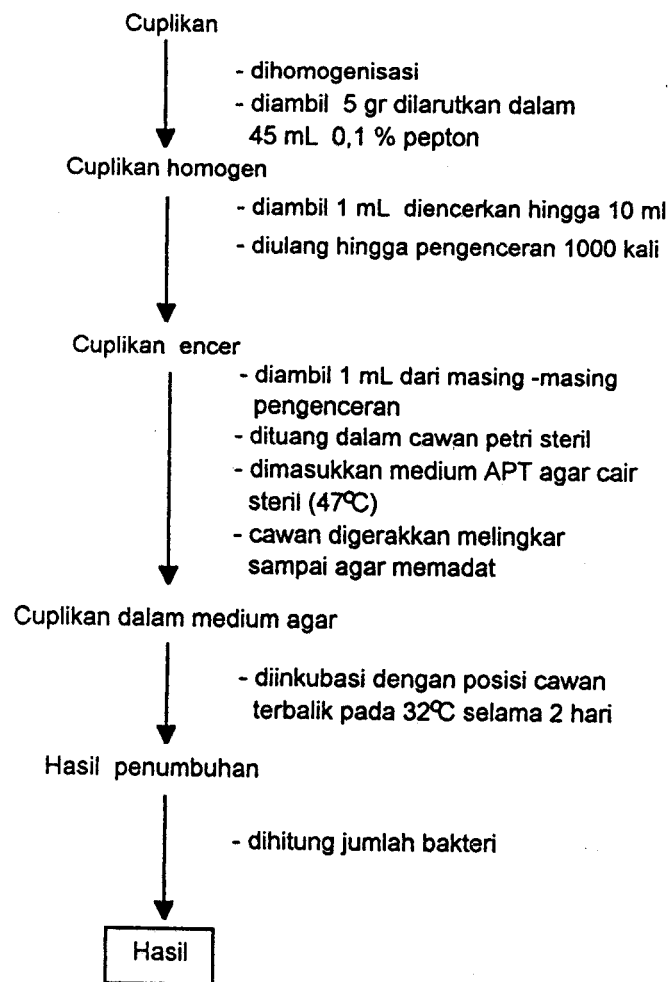
ANALISA MIKROBIOLOGIS



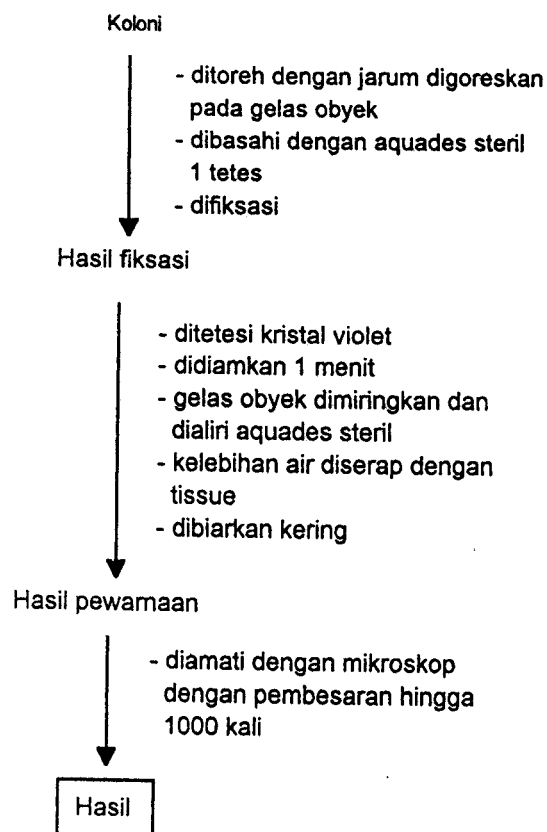
Hasil

B.2. Analisa Bakteri Asam Laktat

- Perhitungan Jumlah Bakteri

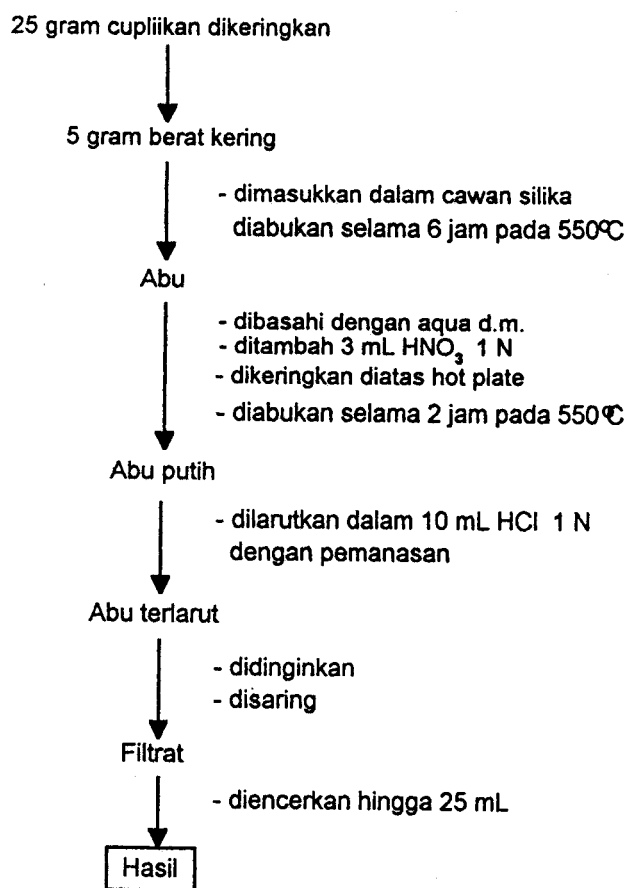


- Identifikasi



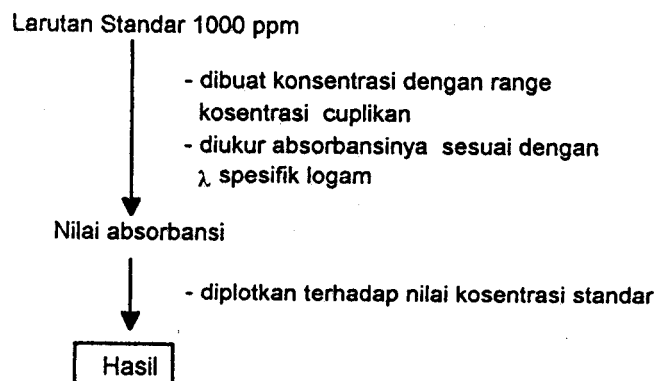
B.3. Analisa Logam

- Persiapan Cuplikan

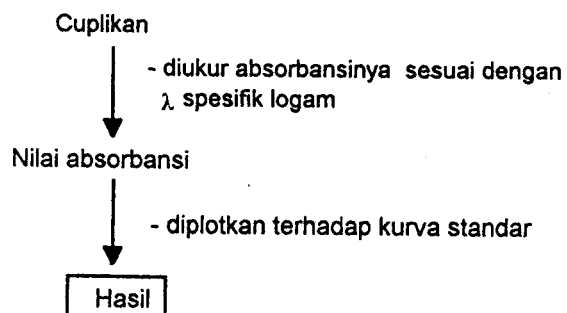


- Analisa Kuantitatif

a. Pembuatan Larutan Standar dan Penentuan Kurva Standar



b. Penentuan Konsentrasi Cuplikan



LAMPIRAN C

PERHITUNGAN JUMLAH BAKTERI

C.1. Analisa Mikrobiologi

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor pengenceran} &= \text{pengenceran awal} \times \text{pengenceran selanjutnya} \times \text{jumlah yang ditumbuhkan} \\
 &= 1/10 \quad \times \quad 1/10 \quad \times \quad 1 \\
 &= 1/100
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bakteri per gram} &= \text{jumlah bakteri} \times 1/\text{faktor pengenceran.} \\
 \text{untuk 0 bulan} &= 10 \quad \times \quad 100 \quad = 10 \cdot 10^2 \\
 &= 4 \quad \times \quad 100 \quad = 4 \cdot 10^2 \\
 &= 4 \quad \times \quad 100 \quad = 4 \cdot 10^2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bakteri per gram} &= \text{jumlah bakteri} \times 1/\text{faktor pengenceran.} \\
 \text{untuk 3 bulan} &= 4 \quad \times \quad 100 \quad = 4 \cdot 10^2 \\
 &= 7 \quad \times \quad 100 \quad = 7 \cdot 10^2 \\
 &= 5 \quad \times \quad 100 \quad = 5 \cdot 10^2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bakteri per gram} &= \text{jumlah bakteri} \times 1/\text{faktor pengenceran.} \\
 \text{untuk 6 bulan} &= 2 \quad \times \quad 100 \quad = 2 \cdot 10^2 \\
 &= 4 \quad \times \quad 100 \quad = 4 \cdot 10^2 \\
 &= 3 \quad \times \quad 100 \quad = 3 \cdot 10^2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bakteri per gram} &= \text{jumlah bakteri} \times 1/\text{faktor pengenceran.} \\
 \text{untuk 9 bulan} &= 5 \times 100 = 5 \cdot 10^2 \\
 &= 10 \times 100 = 10 \cdot 10^2 \\
 &= 7 \times 100 = 7 \cdot 10^2
 \end{aligned}$$

C.2. Analisa Bakteri Asam Laktat

$$\begin{aligned}
 \text{Faktor pengenceran} &= \text{pengenceran awal} \times \text{pengenceran selanjutnya} \times \text{jumlah yang ditumbuhkan} \\
 &= 1/10 \times 1/10 \times 1 \\
 &= 1/100
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bakteri per gram} &= \text{jumlah bakteri} \times 1/\text{faktor pengenceran.} \\
 \text{untuk 0 bulan} &= 1 \times 100 = 1 \cdot 10^2 \\
 &= 3 \times 100 = 3 \cdot 10^2 \\
 &= 5 \times 100 = 5 \cdot 10^2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bakteri per gram} &= \text{jumlah bakteri} \times 1/\text{faktor pengenceran.} \\
 \text{untuk 3 bulan} &= 1 \times 100 = 1 \cdot 10^2 \\
 &= 2 \times 100 = 2 \cdot 10^2 \\
 &= 3 \times 100 = 3 \cdot 10^2
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{Bakteri per gram} &= \text{jumlah bakteri} \times 1/\text{faktor pengenceran.} \\
 \text{untuk 6 bulan} &= 7 \times 100 = 7 \cdot 10^2 \\
 &= 6 \times 100 = 6 \cdot 10^2 \\
 &= 6 \times 100 = 6 \cdot 10^2
 \end{aligned}$$

Bakteri per gram = jumlah bakteri x 1/faktor pengenceran.

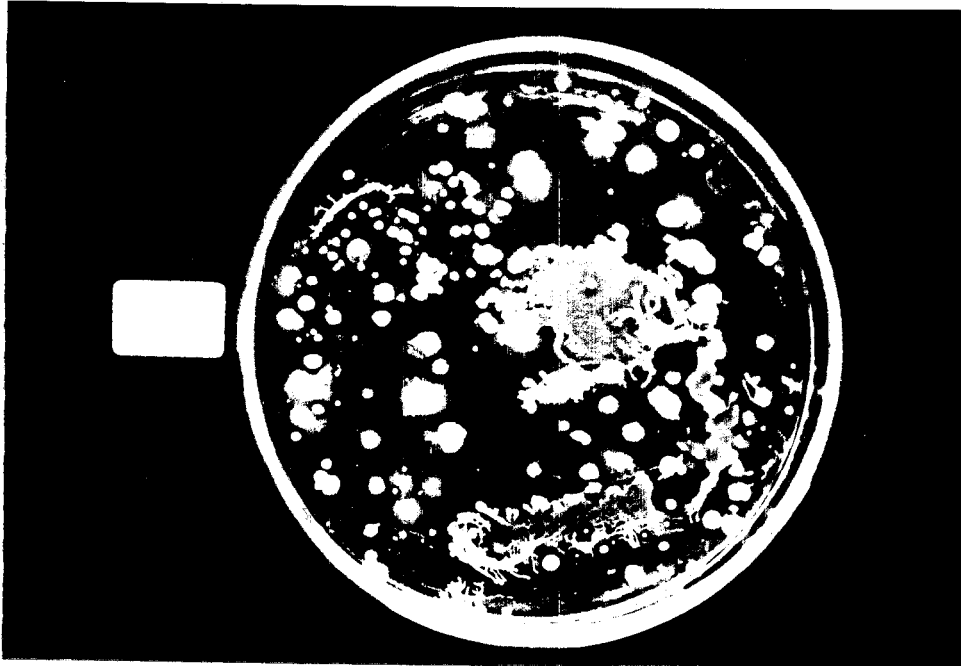
untuk 9 bulan = 1 x 100 = $1 \cdot 10^2$

= 2 x 100 = $2 \cdot 10^2$

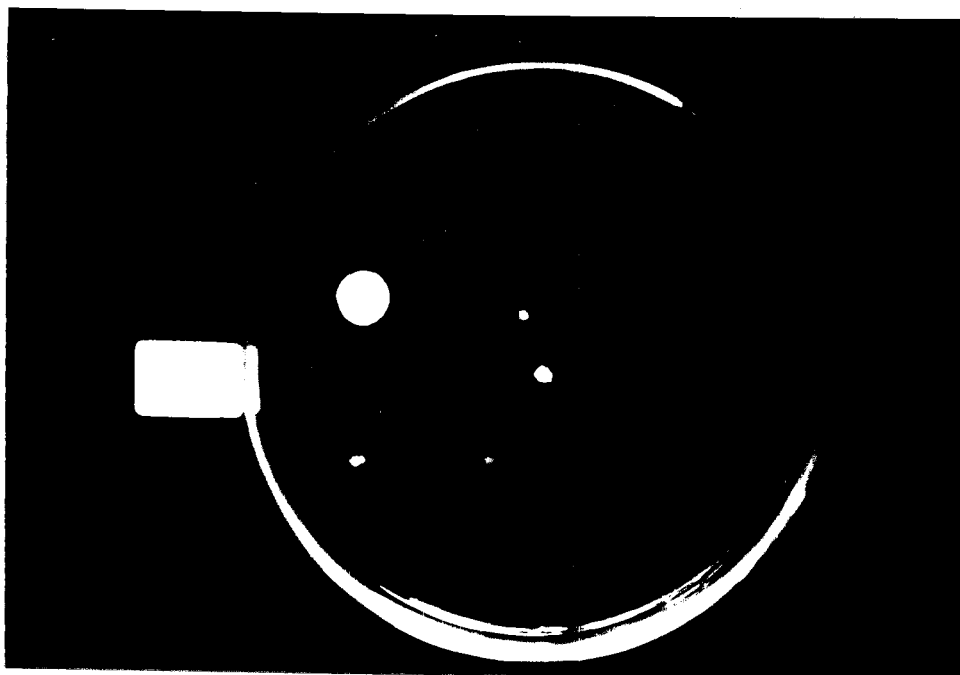
= 2 x 100 = $2 \cdot 10^2$

LAMPIRAN D

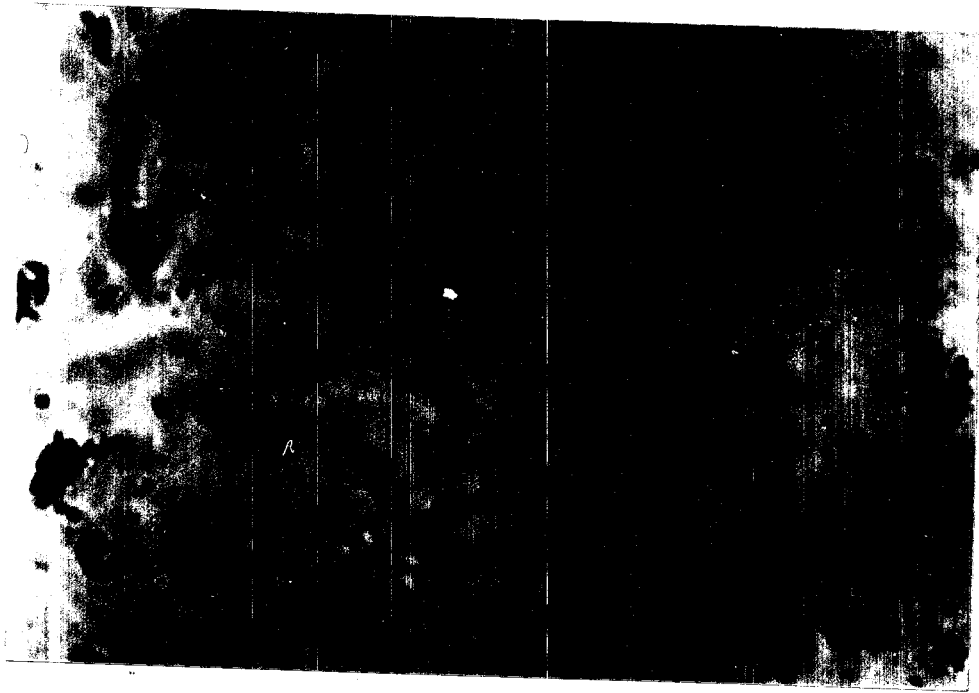
GAMBAR PENUMBUHAN BAKTERI



D.1. Gambar Penumbuhan Bakteri dengan medium Nutrient Agar



D.2. Gambar Penumbuhan Bakteri dengan medium
Acid Producing Test (APT) Agar



D.3. Gambar Bakteri Streptococcus

LAMPIRAN E

PERHITUNGAN KORELASI

E.1. Logam Fe terhadap Jumlah Bakteri dan Waktu

MTB > PRIN C1-C3

ROW	Y	X1	X2
1	25.762	1	0
2	25.762	3	0
3	26.484	5	0
4	27.447	1	3
5	21.427	2	3
6	10.350	3	3
7	42.859	7	6
8	40.451	6	6
9	32.263	6	6
10	24.558	1	9
11	20.705	2	9
12	19.983	2	9

MTB > CORR C1-C3

	Y	X1
X1	0.684	
X2	0.079	0.018

MTB. NOTE ** REGR UTK 1 VAR X (BAKTERI) **

MTB > REGR C1 1 C2 :

The regression equation is
 $Y = 17.5 + 2.78 X1$

Predictor	Coef	Stdev	t-ratio	p
Constant	17.461	3.621	4.82	0.000
X1	2.7825	0.9376	2.97	0.014

s = 6.777

R-sq = 46.8%

R-sq(adj) = 41.5%

Analysis of Variance

SOURCE	DF	SS	MS	F	p
Regression	1	404.53	404.53	8.81	0.014
Error	10	459.30	45.93		
Total	11	863.83			

Pure error test - F = 2.87 P = 0.1199 DF (pure error) = 6

E.2. Logam Sn terhadap Jumlah Bakteri dan Waktu

MTB > PRIN C1-C3

ROW	Y	X1	X2
1	9.660	1	0
2	9.660	1	0
3	9.660	5	0
4	6.891	1	3
5	6.372	2	3
6	7.064	3	3
7	10.525	7	6
8	9.486	6	6
9	8.794	6	6
10	9.140	1	9
11	9.486	2	9
12	7.064	2	9

MTB > CORR C1-C3

	Y	X1
X1	0.477	
X2	-0.039	0.018

MTB. NOTE ** REGR UTK 1 VAR X (BAKTERI) **

MTB > REGR C1 1 C2 :

The regression equation is

$$Y = 7.65 + 0.306 X1$$

Predictor	Coef	Stdev	t-ratio	p
Constant	7.6546	0.6894	11.10	0.000
X1	0.3063	0.1785	1.75	0.117

s = 1.290

R-sq = 22.8%

R-sq(adj) = 15.0%

Analysis of Variance

SOURCE	DF	SS	MS	F	p
Regression	1	4.903	4.903	2.95	0.117
Error	10	16.646	1.665		
Total	11	21.549			

Pure error test - F = 0.38 P = 0.8166 DF (pure error) = 6

E.3. Logam Zn terhadap Jumlah Bakteri dan Waktu

MTB > PRIN C1-C3

ROW	Y	X1	X2
1	2.598	1	0
2	4.032	3	0
3	3.832	5	0
4	4.266	1	3
5	3.765	2	3
6	4.032	3	3
7	5.733	7	6
8	5.033	6	6
9	6.667	6	6
10	2.965	1	9
11	4.499	2	9
12	2.764	2	9

MTB > CORR C1-C3

	Y	X1
X1	0.783	
X2	0.152	0.018

MTB. NOTE ** REGR UTK 1 VAR X (BAKTERI) **

MTB > REGR C1 1 C2 :

The regression equation is
 $Y = 2.78 + 0.430 X1$

Predictor	Coef	Stdev	t-ratio	p
Constant	2.7849	0.4172	6.68	0.000
X1	0.4299	0.1080	3.98	0.003

s = 0.7808

R-sq = 61.3%

R-sq(adj) = 57.4%

Analysis of Variance

SOURCE	DF	SS	MS	F	p
Regression	1	9.6576	9.6576	15.84	0.003
Error	10	6.0972	0.6097		
Total	11	15.7548			

Pure error test - F = 0.58 P = 0.6863 DF (pure error) = 6

LAMPIRAN F

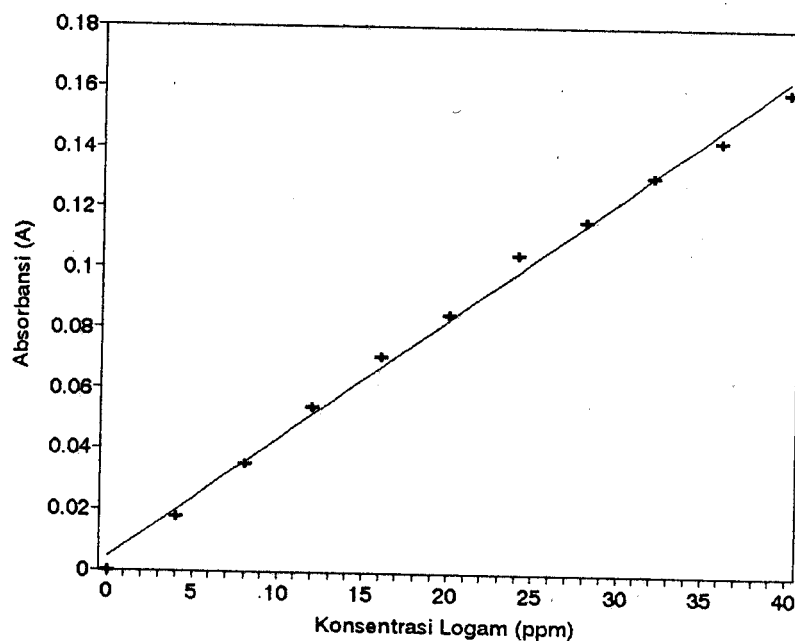
GRAFIK

Logam Fe

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0
4	0.018
8	0.035
12	0.054
16	0.071
20	0.085
24	0.105
28	0.116
32	0.131
36	0.143
40	0.159

$$Y = 0.0042 + 0.004 X$$

$$r = 0.9981$$



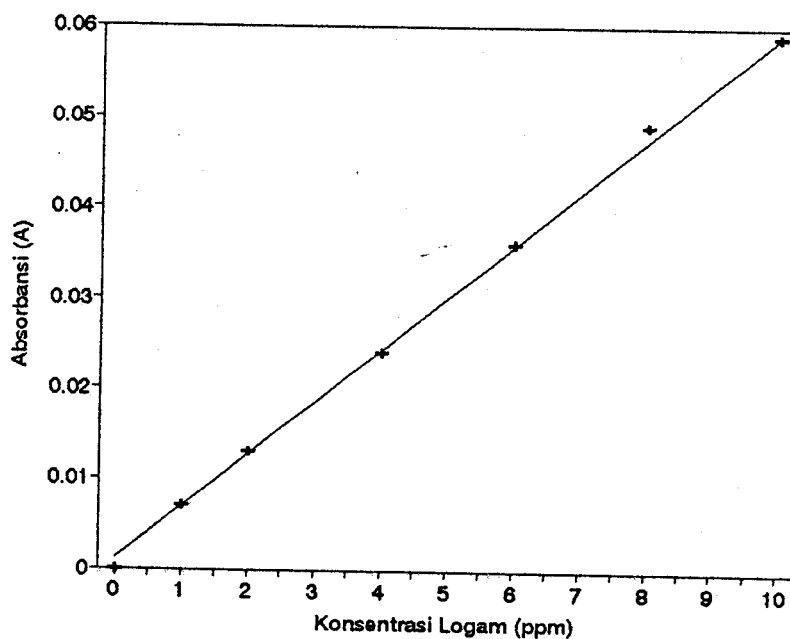
F.1. Kurva Standar Logam Fe

Logam Sn

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0
1	0.007
2	0.013
4	0.024
6	0.036
8	0.049
10	0.059

$$Y = 0.0012 + 0.0058 X$$

$$r = 0.9999$$



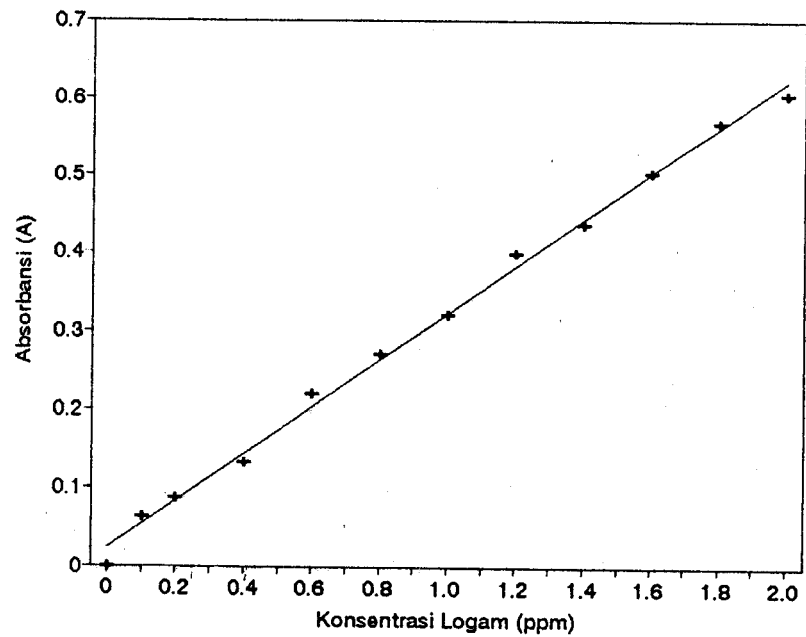
F.2. Kurva Standar Logam Sn

Logam Zn

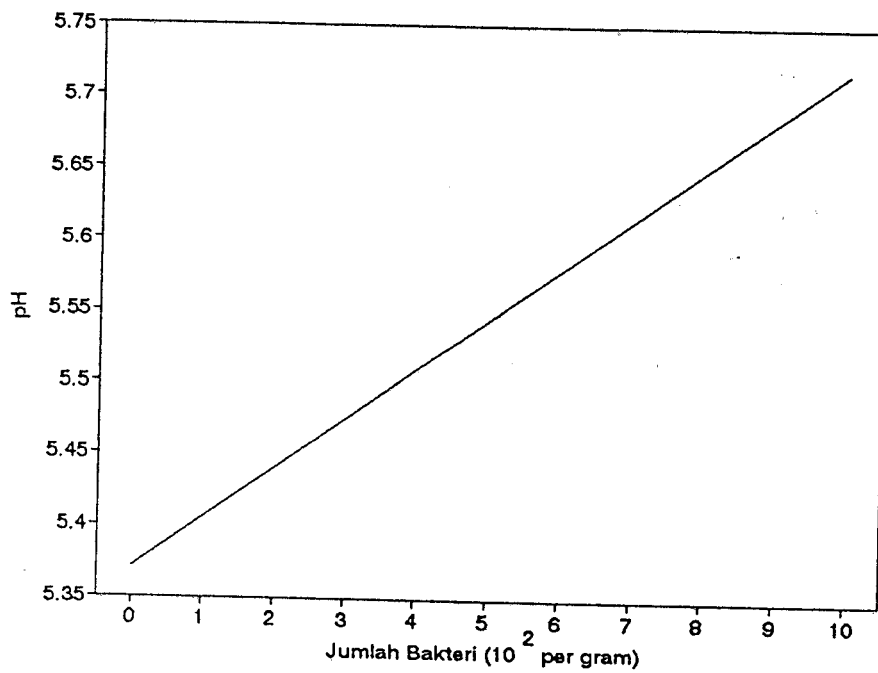
Konsentrasi (ppm)	Absorbansi
0	0
0.1	0.063
0.2	0.088
0.4	0.133
0.6	0.220
0.8	0.271
1.0	0.321
1.2	0.399
1.4	0.435
1.6	0.502
1.8	0.569
2.0	0.604

$$Y = 0.0242 + 0.2986 X$$

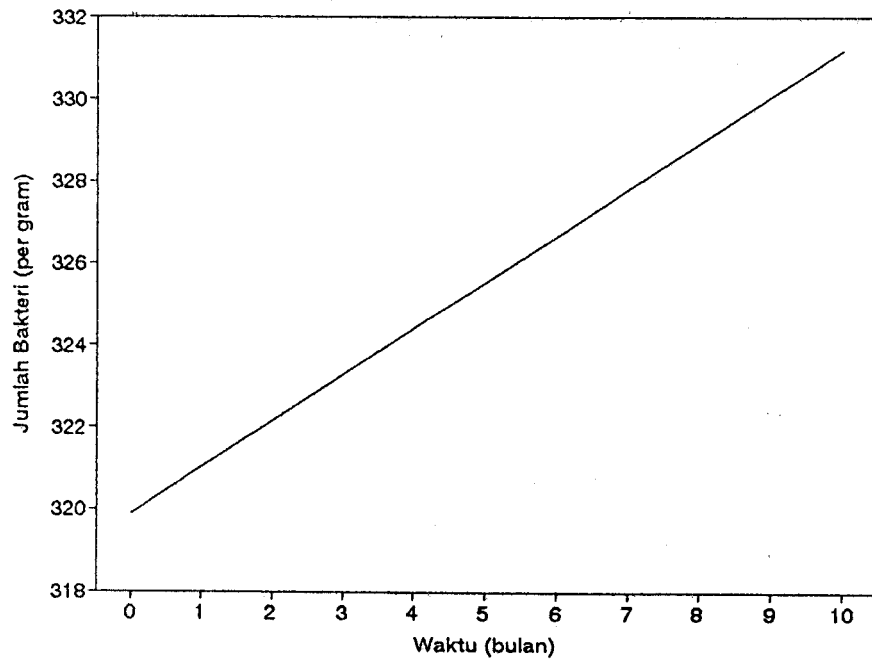
$$r = 0.9980$$



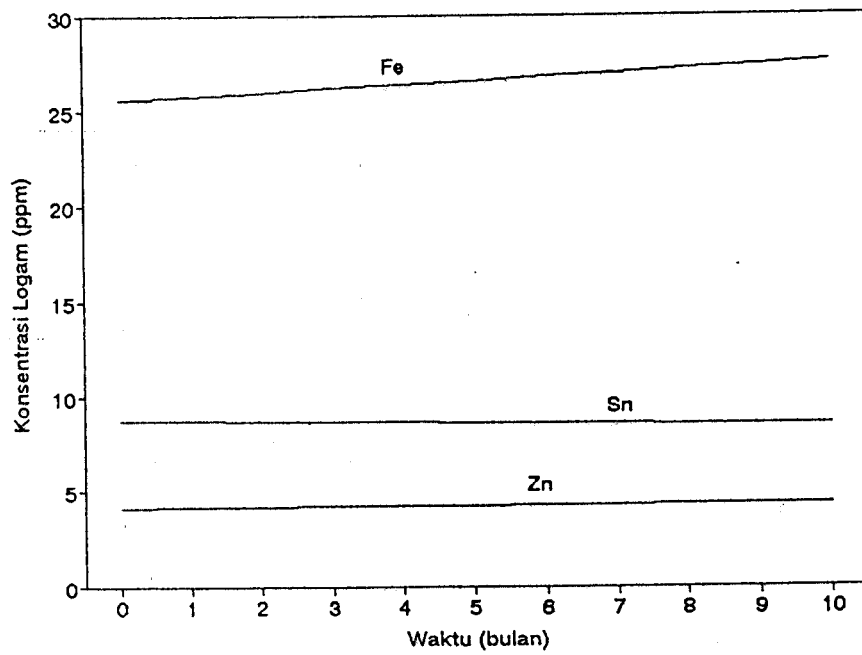
F.3. Kurva Standar Logam Zn



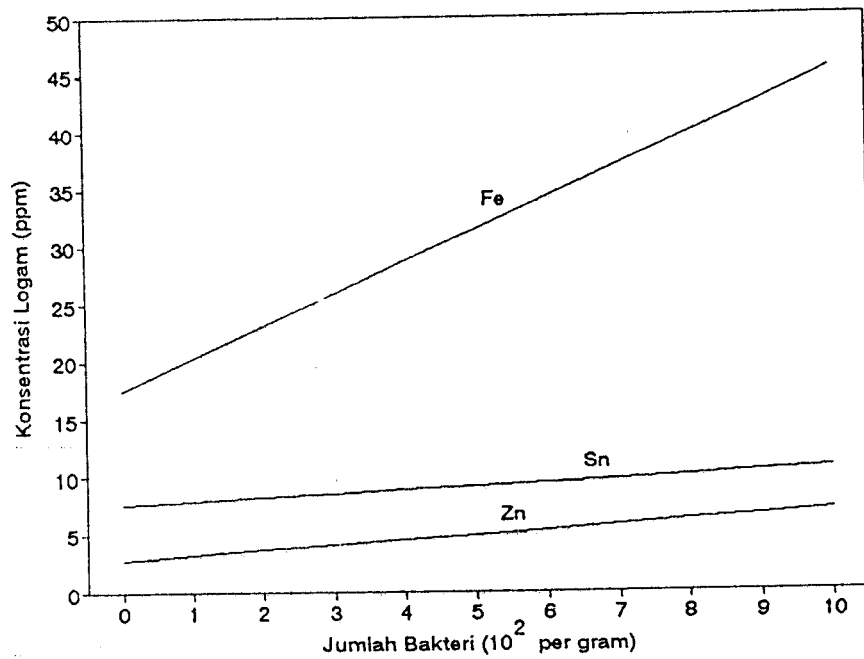
F.4. Grafik Korelasi Bakteri terhadap pH



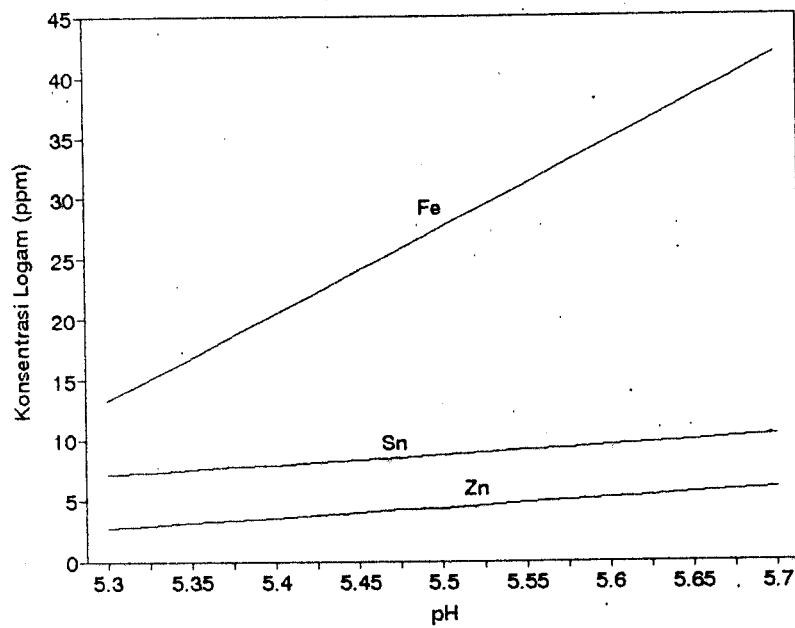
F.5. Grafik Korelasi Bakteri terhadap Waktu



F.6. Grafik Korelasi Konsentrasi Logam terhadap Waktu



F.7. Grafik Korelasi Konsentrasi Logam terhadap Bakteri



F.8. Grafik Korelasi Konsentrasi Logam dengan pH

LAMPIRAN G

TABEL POTENSIAL

ELEKTRODA STANDAR

Reaksi	E° (V)
$K^+ + e^- \rightarrow K_{(s)}$	-2,925
$Ba^{2+} + 2e^- \rightarrow Ba_{(s)}$	-2,906
$Ca^{2+} + 2e^- \rightarrow Ca_{(s)}$	-2,866
$Na^+ + e^- \rightarrow Na_{(s)}$	-2,714
$Mg^{2+} + 2e^- \rightarrow Mg_{(s)}$	-2,363
$Al^{3+} + 3e^- \rightarrow Al_{(s)}$	-1,662
$Zn^{2+} + 2e^- \rightarrow Zn_{(s)}$	-0,763
$Fe^{2+} + 2e^- \rightarrow Fe_{(s)}$	-0,440
$Ni^{2+} + 2e^- \rightarrow Ni_{(s)}$	-0,250
$Sn^{2+} + 2e^- \rightarrow Sn_{(s)}$	-0,136
$Pb^{2+} + 2e^- \rightarrow Pb_{(s)}$	-0,126
$2 H^+ + e^- \rightarrow H_{2(g)}$	0
$Cu^{2+} + 2e^- \rightarrow Cu_{(s)}$	0,337
$Hg^{2+} + 2e^- \rightarrow Hg_{(l)}$	0,788
$Ag^+ + e^- \rightarrow Ag_{(s)}$	0,799
$Pt^{2+} + 2e^- \rightarrow Pt_{(s)}$	1,200
$Au^{3+} + 3e^- \rightarrow Au_{(s)}$	1,498

LAMPIRAN H

TABEL DISTRIBUSI F

		$F_{0,05, v_1, v_2}$																			
$v_2 \backslash v_1$	v_1	Derajat kebebasan untuk pembilang (v_1)																			
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	12	15	20	24	30	40	60	120	∞	
Derajat kebebasan untuk penyebut (v_2)	1	161,4	199,5	215,7	224,6	230,2	234,0	236,8	238,9	240,5	241,9	243,9	245,9	248,0	249,1	250,1	251,1	252,2	253,3	254,3	
	2	18,51	19,00	19,16	19,25	19,30	19,33	19,35	19,37	19,38	19,40	19,41	19,43	19,45	19,45	19,46	19,47	19,48	19,49	19,50	
	3	10,13	9,55	9,28	9,12	9,01	8,94	8,89	8,85	8,81	8,79	8,74	8,70	8,66	8,64	8,62	8,59	8,57	8,55	8,53	
	4	7,71	6,94	6,59	6,39	6,26	6,16	6,09	6,04	6,00	5,96	5,91	5,86	5,80	5,77	5,75	5,72	5,69	5,66	5,63	
	5	6,61	5,79	5,41	5,19	5,05	4,95	4,88	4,82	4,77	4,74	4,68	4,62	4,56	4,53	4,50	4,46	4,43	4,40	4,36	
	6	5,99	5,14	4,76	4,53	4,39	4,28	4,21	4,15	4,10	4,06	4,00	3,94	3,87	3,84	3,81	3,77	3,74	3,70	3,67	
	7	5,59	4,74	4,35	4,12	3,97	3,87	3,79	3,73	3,68	3,64	3,57	3,51	3,44	3,41	3,38	3,34	3,30	3,27	3,23	
	8	5,32	4,46	4,07	3,84	3,69	3,58	3,50	3,44	3,39	3,35	3,28	3,22	3,15	3,12	3,08	3,04	3,01	2,97	2,93	
	9	5,12	4,26	3,86	3,63	3,48	3,37	3,29	3,23	3,18	3,14	3,07	3,01	2,94	2,90	2,86	2,83	2,79	2,75	2,71	
	10	4,96	4,10	3,71	3,48	3,33	3,22	3,14	3,07	3,02	2,98	2,91	2,85	2,77	2,74	2,70	2,66	2,62	2,58	2,54	
	11	4,84	3,98	3,59	3,36	3,20	3,09	3,01	2,95	2,90	2,85	2,79	2,72	2,65	2,61	2,57	2,53	2,49	2,45	2,40	
	12	4,75	3,89	3,49	3,26	3,11	3,00	2,91	2,85	2,80	2,75	2,69	2,62	2,54	2,51	2,47	2,43	2,38	2,34	2,30	
	13	4,67	3,81	3,41	3,18	3,03	2,92	2,83	2,77	2,71	2,67	2,60	2,53	2,46	2,42	2,38	2,34	2,30	2,25	2,21	
	14	4,60	3,74	3,34	3,11	2,96	2,85	2,76	2,70	2,65	2,60	2,53	2,46	2,39	2,35	2,31	2,27	2,22	2,18	2,13	
	15	4,54	3,68	3,29	3,06	2,90	2,79	2,71	2,64	2,59	2,54	2,48	2,40	2,33	2,29	2,25	2,20	2,16	2,11	2,07	
	16	4,49	3,63	3,24	3,01	2,85	2,74	2,66	2,59	2,54	2,49	2,42	2,35	2,28	2,24	2,19	2,15	2,11	2,06	2,01	
	17	4,45	3,59	3,20	2,96	2,81	2,70	2,61	2,55	2,49	2,45	2,38	2,31	2,23	2,19	2,15	2,10	2,06	2,01	1,96	
	18	4,41	3,55	3,16	2,93	2,77	2,66	2,58	2,51	2,46	2,41	2,34	2,27	2,19	2,15	2,11	2,06	2,02	1,97	1,92	
	19	4,38	3,52	3,13	2,90	2,74	2,63	2,54	2,48	2,42	2,38	2,31	2,23	2,16	2,11	2,07	2,03	1,98	1,93	1,88	
	20	4,35	3,49	3,10	2,87	2,71	2,60	2,51	2,45	2,39	2,35	2,28	2,20	2,12	2,08	2,04	1,99	1,95	1,90	1,84	
	21	4,32	3,47	3,07	2,84	2,68	2,57	2,49	2,42	2,37	2,32	2,25	2,18	2,10	2,05	2,01	1,96	1,92	1,87	1,81	
	22	4,30	3,44	3,05	2,82	2,66	2,55	2,46	2,40	2,34	2,30	2,23	2,15	2,07	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,78	
	23	4,28	3,42	3,03	2,80	2,64	2,53	2,44	2,37	2,32	2,27	2,20	2,13	2,05	2,01	1,96	1,91	1,86	1,81	1,76	
	24	4,26	3,40	3,01	2,78	2,62	2,51	2,42	2,36	2,30	2,25	2,18	2,11	2,03	1,98	1,94	1,89	1,84	1,79	1,73	
	25	4,24	3,39	2,99	2,76	2,60	2,49	2,40	2,34	2,28	2,24	2,16	2,09	2,01	1,96	1,92	1,87	1,82	1,77	1,71	
	26	4,23	3,37	2,98	2,74	2,59	2,47	2,39	2,32	2,27	2,22	2,15	2,07	1,99	1,95	1,90	1,85	1,80	1,75	1,69	
	27	4,21	3,35	2,96	2,73	2,57	2,46	2,37	2,31	2,25	2,20	2,13	2,06	1,97	1,93	1,88	1,84	1,79	1,73	1,67	
	28	4,20	3,34	2,95	2,71	2,56	2,45	2,36	2,29	2,24	2,19	2,12	2,04	1,96	1,91	1,87	1,82	1,77	1,71	1,65	
	29	4,18	3,33	2,93	2,70	2,55	2,43	2,35	2,28	2,22	2,18	2,10	2,03	1,94	1,90	1,85	1,81	1,75	1,70	1,64	
	30	4,17	3,32	2,92	2,69	2,53	2,42	2,33	2,27	2,21	2,16	2,09	2,01	1,93	1,89	1,84	1,79	1,74	1,68	1,62	
	40	4,08	3,23	2,84	2,61	2,45	2,34	2,25	2,18	2,12	2,08	2,00	1,92	1,84	1,79	1,74	1,69	1,64	1,58	1,51	
	60	4,00	3,15	2,76	2,53	2,37	2,25	2,17	2,10	2,04	1,99	1,92	1,84	1,75	1,70	1,65	1,59	1,53	1,47	1,39	
	120	3,92	3,07	2,68	2,45	2,29	2,17	2,09	2,02	1,96	1,91	1,83	1,75	1,66	1,61	1,55	1,55	1,43	1,35	1,25	
	∞	3,84	3,00	2,60	2,37	2,21	2,10	2,01	1,94	1,88	1,83	1,75	1,67	1,57	1,52	1,46	1,39	1,32	1,22	1,00	